

**STUDI HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR AKTIVITAS, *SEARCHING*
FARMAKOFOR, *VIRTUAL SCREENING*, *DOCKING* MOLEKUL, UJI
TOKSISITAS DAN PROFIL FARMAKOKINETIK SENYAWA
TURUNAN CAPSAICIN SEBAGAI ANTAGONIS
RESEPTOR TRPV1 SECARA *IN SILICO***



Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih
Gelar Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi
Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

Oleh
RESKY NUGRAHA
NIM. 70100114059

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR**

2018

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bersangkutan di bawah ini:

Nama : Resky Nugraha
NIM : 70100114059
Tempat/Tanggal Lahir : Watampone/ 07 Juli 1996
Jur/Prodi/Konsentrasi : Farmasi
Alamat : Jl. Tun Abdul Razak, BTN Pao-Pao, blok C1/5
Judul Penelitian : Studi Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas,
Searching Farmakofor, Virtual Screening, Docking
Molekul, Uji Toksisitas dan Profil Farmakokinetik
Senyawa Turunan Capsaicin Sebagai Antagonis
Reseptor TRPV1 Secara *In Silico*

Menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusun sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikasi, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Agustus 2018

Penyusun

Resky Nugraha
NIM: 70100114059

PENGESAHAN SKRIPSI

Skrripsi yang berjudul "**Studi Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas, Searching Farmakofor, Virtual Screening, Docking Molekul, Uji Toksisitas Dan Profil Farmakokinetik Senyawa Turunan Capsaicin Sebagai Antagonis Reseptor TRPV1 *In Silico***" yang disusun oleh Resky Nugraha, NIM : 70100114059, Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari Senin, 20 Agustus 2018 yang bertepatan dengan 8 Dzulhijjah 1439 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jurusan Farmasi.

Gowa, 20 Agustus 2018 M
8 Dzulhijjah 1439 H

DEWAN PENGUJI

Ketua : Dr. dr. H. Andi Armyan Nurdin, M.Sc.

Sekretaris : Haeira, S.Si., M.Si.

Pembimbing I : Haeira, S.Si., M.Si.

Pembimbing II : Nur Syamsi Dhuha, S.Farm., M.Si.

Penguji I : Afrisusnawati Rauf, S.Si., M.Si., Apt.

Penguji II : Dr. Wahyuddin G., M. Ag.

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)



Dr. dr. H. Andi Armyan Nurdin, M.Sc.
NIP. 19550203 198312 1 001

KATA PENGANTAR



Segala puji bagi Allah SWT atas nikmat akal dan pikiran yang diberikan serta limpahan ilmu yang tiada hentinya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tepat pada waktunya. Salawat dan salam juga tak lupa penulis haturkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, keluarga dan para sahabat serta orang-orang yang mengikutinya.

Skripsi dengan judul **“Studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA), *Searching* Farmakofor, *Virtual Screening*, *Docking* Molekul, Uji Toksisitas dan Profil Farmakokinetik Senyawa Turunan Capsaicin Sebagai Antagonis Reseptor TRPV1 Secara *In Silico*”** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Jurusan Farmasi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini bukanlah tujuan akhir dari belajar karena belajar adalah sesuatu yang tidak terbatas.

Skripsi ini dengan terselesaikannya, tentu tak lepas dari dorongan dari berbagai pihak. Penulis menyadari banyaknya kendala yang dihadapi dalam penyusunan skripsi ini. Namun berkat do’a, motivasi dan kontribusi dari berbagai pihak, maka kendala tersebut mampu teratasi dan terkendali dengan baik.

Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Allah SWT** yang dengan tuntunan serta limpahan kasih-Nya sehingga hidup terasa lebih berkah dengan senantiasa bertawakkal kepada-Nya.
2. Bapak **Prof. Dr. H. Musafir Pababari, M.Si** selaku Rektor UIN Alauddin Makassar dan bapak **DR. dr. Andi Armyn Nurdin, M.Sc.** selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
3. Ibu **Dr. Nurhidayah, S.Kep., Ns, M.Kes** selaku Wakil Dekan I, ibu **Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M.Kes** selaku Wakil Dekan II, dan bapak **Dr. Mukhtar Lutfi, M.Ag.** selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
4. Ibu **Haeria, S.Si., M.Si.** Selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan pembimbing pertama yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan, serta meluangkan banyak waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis, dan ibu
5. Ibu **Nur Syamsi Dhuha, S.Farm., M.Si.,** selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis. Semoga Allah swt. membalas bantuan ibu dengan pahala bahkan hal yang lebih baik, di dunia dan akhirat.
6. Ibu **Afrisusnawati Rauf, S.Si., M.Si., Apt.** Selaku penguji kompetensi yang telah banyak memberikan saran dan kritiknya demi perbaikan dan kelengkapan skripsi ini, serta Bapak **Dr. Wahyuddin G., M. Ag.** selaku penguji agama yang telah

banyak memberikan pengarahan sekaligus bimbingan terhadap kelengkapan dan perbaikan khususnya, tinjauan agama skripsi ini.

7. Orang tua, **Ayahanda** tercinta **Amir N.** dan **Ibunda** tercinta **St. Chadijah**, untuk semua dukungan berharga yang pasti takkan pernah bisa kubalaskan setimpal, baik berupa kasih sayang, materi, nasehat dan do'a yang tulus. Juga, kelima saudara terbaikku, **Kak Fify**, **Kak ayu** juga **Idhan** serta **keluarga** besar yang senantiasa memberikan restu dan Do'a-Nya.
8. **Bapak, Ibu Dosen**, serta seluruh **Staf Jurusan Farmasi** atas curahan ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang diberikan pada penulis sejak menempuh pendidikan Farmasi hingga saat ini.
9. Sahabat terbaikku **Sherin, Henna dan Rahma** untuk kesetiaan dan kesabarannya selama ini, untuk segala bantuan, dukungan, semangat serta doa-doanya. Semoga Allah selalu meridhoi persahabatan kita dunia dan akhirat.
10. Teman seperjuangan kimia komputasi **Alfiana Dwi Puspita** sebagai partner yang baik, teliti dan ulet. Terima kasih atas semangat, kerja keras dan kesabarannya dalam menghadapi setiap rintangan dalam penelitian ini.
11. Teman-teman Seperjuangan **GALENICA (2014)**, manusia-manusia kuat yang akan tetap selalu kuat, untuk kebersamaan, kepercayaan serta persahabatan berharga yang selalu kudapatkan,
12. **Kakak-kakak** dan **adik-adik** di Farmasi UIN Alauddin Makassar serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan pada skripsi ini. Oleh karena, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan skripsi ini kedepan-Nya. Besar harapan penulis kiranya skripsi ini dapat bernilai ibadah disisi Allah SWT. dan bermanfaat bagi bagi semua pihak. Aamiin.

Makassar.....Agustus 2018

Penyusun

Penyusun



ABSTRAK

Nama : Resky Nugraha
NIM : 70100114059
Judul Skripsi : Studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas, Docking Molekul, Penelusuran Farmakofor, Virtual Screening, Uji Toksisitas, Dan Profil Farmakokinetik Senyawa Turunan Capsaicin Sebagai Antagonis Reseptor TRPV1 Secara *In silico*

Latar Belakang : Neuropati merupakan tantangan dalam bidang pengobatan karena adanya keberagaman etiologi, gejala dan mekanisme yang mendasarinya. Obat anti-neuropati yang direkomendasikan saat ini memiliki berbagai efek samping sistemik dan memberikan efek penghilang rasa sakit hanya pada 30%-40% pasien. Capsaicin merupakan senyawa spesifik untuk reseptor TRPV1 yang merupakan analgesik poten. Namun penggunaannya masih dibatasi karena efeknya yang mengiritasi kulit dan bersifat nociceptik.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk menemukan model persamaan HKSA senyawa, menemukan fitur-fitur farmakofor senyawa yang bertanggungjawab atas aktivitas dan selektivitas Reseptor TRPV1, serta memperoleh senyawa hasil *virtual screening*, kemudian ditentukan profil farmakokinetik, dan toksisitas metabolit pada pengobatan neuropati perifer.

Metode : Penelitian ini didasari dengan pendekatan pra eksperimen dengan sistem komputasi, yaitu penelitian eksperimen yang hanya menggunakan kelompok studi tanpa menggunakan kelompok kontrol serta pengambilan responden tidak dilakukan randomisasi, variable-variabel terkait secara otomatis akan ditentukan dengan software program komputer yang telah berkembang saat ini.

Kesimpulan : Dari penelitian didapatkan persamaan: $\text{Log Aktivitas} = 42,086 - 0,00002569 \text{ AM1_Eele} + 7,422 \text{ PC} + 8,842 \text{ Kier } 3 + 0,364 \text{ vdw_vol}$, dimana $r^2 = 0,931$ dan $q^2 = 0,779454$, hasil *virtual screening* diperoleh senyawa dengan kode ZINC08439508 adalah senyawa yang paling baik diantara 59.137 senyawa yang dilihat dari sisi kecocokan pada *query* farmakofor, *docking* dengan metode farmakofor, prediksi bioavailabilitas menggunakan aturan Lipinski, dan prediksi ADME/T.

Kata kunci : HKSA, *docking* molekul, farmakofor, neuropati perifer, TRPV1

ABSTRACT

Nama : Resky Nugraha
NIM : 70100114059
Title : Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR), Molecular Docking, Searching Pharmacophore, Virtual Screening, Toxicity Test, and Pharmacokinetic Profile of Derivative Compounds of Capsicin as TRPV1 Receptor Antagonist in In Silico

Background : Neuropathy is very challenging in medicinal because of the diversity of etiologies, types and underlying mechanisms. Current anti-neuropathy recommend drugs have various systemic side effect and provide analgesic effect only in 30%-40% patients. Capsaicin is aspesific compound for TRPV1 receptors which is a potent analgesic, but its use still limited because of its irritating effects on the skin and nociceptic.

Purpose : The aims of this study is to find the QSAR model equation of compounds, to find pharmacophore features of compounds that responsible for activity and selectivity of TRPV1, as well as to select compounds from virtual screening results then determine the pharmacocinetic profile, toxicity, and the toxicity of metabolites for peripheral neuropathy treatment.

Method : This study is basen on the pre-experimental approach by computation system, research that only uses study group without using a control group and the taken of respondents was not randomized, the related variables will automatically be determined by the current software programs.

Conclusion : From the research, the equation obtained: $\text{LogIC50} = \text{Log Activity} = 42,086 - 0.00002569 \text{ AM1_Eele} + 7,422 \text{ PC} + 8,842 \text{ Kier 3} + 0,364 \text{ vdw_vol}$, which $r^2 = 0.931$ and $q^2 = 0.779454$, as for the compounds of zinc database, the result is a compound with a code ZINC08439508 is the best compound among 59.137 compounds in terms of suitability of the pharmacophore query, docking by pharmacophore method, bioavailability prediction using Lipinski rule of five and from the prediction of ADME/T.

Keywords : QSAR, molecular docking, pharmacophore, peripheral neuropathy,

TRPV1

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR TABEL	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian	5
1. Defenisi Operasional	6
2. Ruang Lingkup Penelitian	6
D. Kajian Pustaka	7
E. Tujuan dan Manfaat Penelitian	11
1. Tujuan Penelitian	11
2. Manfaat Penelitian	12
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	13
A. Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas	13
B. <i>Docking</i> Molekul	13
C. <i>Searching</i> Farmakofor	19
D. <i>Virtual screening</i>	21
E. Prediksi <i>In Silico</i> dari Sifat ADME/T	24
F. Nyeri Neuropati	26
G. <i>Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V1</i> Sebagai (TRPV1)Target Aksi Obat anti-neuropati	32

H. Senyawa Turunan <i>Capsaicin</i> sebagai Antagonis Reseptor TRPV1.....	36
I. Tinjauan Islam	42
BAB III METODE PENELITIAN.....	45
A. Jenis dan Lokasi Penelitian	45
1. Jenis Penelitian.....	45
2. Lokasi Penelitian.....	45
B. Pendekatan Penelitian.....	45
C. Sumber data.....	45
D. Instrumen Penelitian.....	46
E. Prosedur Pengolahan Dan Analisis data.....	46
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	60
A. Hasil	60
B. Pembahasan.....	75
BAB V PENUTUP.....	93
A. Kesimpulan.....	93
B. Implikasi Penelitian.....	94
KEPUSTAKAAN	95
LAMPIRAN.....	97
DAFTAR RIWAYAT.....	98

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Faktor yang berkontribusi terhadap nyeri neuropati perifer	30
Gambar 2	Ekspresi kanal ion pada dorsal ganglia	31
Gambar 3	Struktur reseptor TRPV1	33
Gambar 4	Faktor yang mendasari fosforilasi dan aktivasi TRPV1	34
Gambar 5	Jendela <i>HyperChem</i>	35
Gambar 6	Proses desensitasi reseptor TRPV1	36
Gambar 7	Struktur molekul capsaicin	39
Gambar 8	Modifikasi terhadap senyawa capsaicin	47
Gambar 9	Panel Optimasi	47
Gambar 10	Jendela <i>Energy Minimize</i>	48
Gambar 11	Jendela <i>database Viewer</i>	49
Gambar 12	Panel Perhitungan Deskriptor	53
Gambar 13	Panel <i>Protonate 3D</i>	54
Gambar 14	Panel <i>Dock</i>	55
Gambar 15	Panel <i>Pharmacofor Query editor</i>	57
Gambar 16	Jendela Toxtree	58
Gambar 17	Jendela admetSAR	59
Gambar 18	Jendela PreADMET	62
Gambar 19	Analisis struktur dan aktivitas senyawa turunan capsaicin region A	62
Gambar 20	Analisis struktur dan aktivitas senyawa turunan capsaicin region C	63
Gambar 21	Model farmakofor capsaicin	64
Gambar 22	Query farmakofor capsaicin	68
Gambar 23	Jarak <i>query</i> farmakofor antagonis TRPV1 senyawa capsaicin	69
Gambar 24	Query farmakofor ligan antagonis TRPV1 yang telah disejajarkan dengan senyawa capsaicin	69
Gambar 25	Query farmakofor ligan antagonis TRPV1 yang telah disejajarkan dengan senyawa capsaicin	71
Gambar 26	<i>Molecular surface</i> ligan capsaicin protein 2n27	71

Gambar 27	Interaksi ligan capsaicin protein 2n27	72
Gambar 28	<i>Molecular surface</i> dan interaksi capsaicin dengan protein 2n27	72
Gambar 29	Docking senyawa antagonis TRPV1	73
Gambar 30	Interaksi ZINC08439508 dengan protein 2n27	73
Gambar 31	<i>Molecular surface</i> ZINC08439508 dengan protein 2n27	80
Gambar 32	Interaksi ZINC08439489 dengan protein 2n27	80
Gambar 33	<i>Molecular surface</i> ZINC08439489 dengan protein 2n27	82
Gambar 34	Interaksi ZINC02071889 dengan protein 2n27	86
Gambar 35	<i>Molecular surface</i> ZINC02071889 dengan protein 2n27	86



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Skema Kerja	97
Lampiran II	Hasil Perhitungan Deskriptor.....	101
Lampiran III	Hasil Korelasi <i>Pearson</i>	102
Lampiran V	Jarak fitur farmakofor senyawa hasil <i>virtual screening</i>	104
Lampiran VI	Hasil <i>docking</i> Interaksi senyawa Hits pada protein 4MBS	105
Lampiran VII	Hasil <i>docking</i> senyawa <i>hits</i>	106
Lampiran VIII	Parameter HKSA senyawa hasil docking dengan protein 2n27	



DAFTAR TABEL

Tabel 1	Modifikasi bagian kepala dan ekor dari molekul capsaicin	39
Tabel 2	Efek agonis dan aktivitas pelepasan nitrit oksida senyawa turunan capsaicin dengan donor NO	40
Tabel 3	Efek analgesik senyawa turunan capsaicin dengan donor NO	41
Tabel 4	Daftar deskriptor	50
Tabel 5	Hasil regresi multinier metode <i>backward</i>	60
Tabel 6	Kombinasi deskriptor nilai kriteria statistik dan validasi LOO	61
Tabel 7	Database 11 senyawa <i>hits virtual screening</i>	64
Tabel 8	Hasil docking senyawa hits pada protein 2n27	70
Tabel 9.	Aturan Lipinski dari 3 senyawa hasil docking	74
Tabel 10.	Hasil prediksi toksisitas	74
Tabel 11.	Hasil prediksi farmakokinetik menggunakan PreADMET	75



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Dalam kehidupannya manusia akan diuji baik dengan perkara yang tidak disukainya atau bisa pula perkara yang menyenangkan. Sakit merupakan salah satu ujian yang diberikan Allah SWT pada hambanya. Semua orang pasti pernah mengalami sakit, baik itu sakit ringan maupun sakit yang serius. Allah SWT. berfirman dalam Q.S. Al-Anbiyaa/21: 35

كُلُّ نَفْسٍ ذَائِقَةُ الْمَوْتِ وَنَبْلُوكُم بِالشَّرِّ وَالْخَيْرِ فِتْنَةً وَإِلَيْنَا تُرْجَعُونَ

Terjemahnya :

"Setiap yang bernyawa akan merasakan mati. Kami akan menguji kamu dengan keburukan dan kebaikan sebagai cobaan. Dan kamu akan dikembalikan hanya kepada Kami.

(Kementerian Agama RI : Al-quran dan Terjemahan. 2013)

Sahabat Ibnu ‘Abbas menafsirkan ayat ini : “ Kami akan menguji kalian dengan kesulitan dan kesenangan, kesehatan dan penyakit, kekayaan dan kefakiran, halal dan haram, ketaatan dan kemaksiatan, petunjuk dan kesesatan.” (Tafsir Ibnu Jarir).

Nyeri merupakan masalah kesehatan umum dan merupakan keluhan yang banyak terjadi. Nyeri adalah tanda dan gejala sebagian besar penyakit yang menunjukkan telah terjadi gangguan secara *fisiological* dalam tubuh.

Nyeri adalah pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang memiliki dampak signifikan terhadap kualitas hidup seseorang. *The International Association for The Study of Pain (IASP)* mendefinisikan nyeri

neuropatik sebagai nyeri yang disebabkan oleh lesi atau cedera pada sistem saraf somatosensori. Nyeri neuropati terbagi atas dua yaitu nyeri neuropati sentral dan nyeri neuropati perifer (*Neuropathic Pain Guidline*, 2014: 5)

Nyeri neuropatik merupakan tantangan dalam bidang pengobatan karena adanya keberagaman etiologi, gejala dan mekanisme yang mendasarinya. Seringkali ditemukan adanya ketidakpastian mengenai sifat dan lokasi dari lesi serta adanya bermacam-macam kondisi kesehatan yang berhubungan dengan nyeri neuropati yang perlu untuk ditangani (*NICE Clinical Guideline* 173, 2013:5).

Neuropati perifer terjadi akibat adanya lesi atau kerusakan pada sistem saraf somatosensori perifer. Neuropati perifer meliputi neuralgia pasca traumatik, neuralgia pasca herpes (PHN), neuropati perifer diabetik (DPN), dan neuropati- HIV (Sommer & Gruccu, 2017: 1).

Antidepresan trisiklik, antikonvulsan (termasuk gabapentin dan pregabalin) dan selektif serotonin dan noradrenalin *reuptake* inhibitor (SSRI dan SNRI) merupakan obat oral lini pertama yang direkomendasikan oleh *International Guidelines and Recommendation from The European Federation of Neurological Societies and The Special Interest Group on Neuropathic Pain* untuk neuropati perifer. Akan tetapi, obat-obatan tersebut hanya dapat memberikan penghilang rasa sakit yang memuaskan pada 30%-40% pasien dan memiliki berbagai efek samping sistemik yang tidak diinginkan. Akibatnya, banyak pasien dengan penyakit neuropati perifer mengalami rasa sakit yang terus-menerus, kualitas hidup yang buruk (QoL) dan memerlukan pelayanan kesehatan yang tinggi. Solusi alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan penggunaan agen topikal. Dua perawatan topikal saat ini yang dilisensikan oleh *European Medicines Agency* (EMA) untuk

mengatasi nyeri perifer adalah lidocaine 5% yang hanya dikhususkan untuk penyakit neuropati perifer diabetik dan *patch* kutaneous 179 mg (8% b/b) capsaicin (capsaicin 8% patch) untuk semua jenis neuropati perifer (Sommer & Gruccu, 2017: 2).

Sebagai anti-neuropati untuk semua jenis neuropati perifer, capsaicin merupakan agen yang penting dalam pengembangan obat. Capsaisin (*8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide*) merupakan produk natural yaitu komponen aktif dalam tanaman cabai dari genus *Capsicum* (Ghawat *et al*, 2015: 333). Capsaicin mengandung gugus *vanillyl* (yang disebut sebagai kepala), kelompok amida (leher) dan rantai asam lemak (ekor) (Fan & Zheng, 2016: 2).

Capsaicin bekerja dengan selektif pada reseptor TRPV1. TRPV1 (*Transient Receptor Potential Vanilloid 1*) merupakan reseptor terkait kanal ion non-spesifik yang berperan dalam transduksi, transmisi, persepsi dan modulasi nyeri yang terdapat pada sistem saraf perifer dan sistem saraf pusat (Malek *et al*, 2015: 1). Pengikatan capsaicin pada TRVP1 akan mengaktivasi reseptor tersebut, meningkatkan influks kalsium dalam sel yang kemudian mendesensititasi saraf penghantar nyeri sehingga menimbulkan efek analgesik (Huang *et al*, 2013: 2662).

Capsaicin memiliki afinitas, sensitifitas dan selektivitas yang tinggi terhadap reseptor TRVP1 serta tidak mengaktifkan reseptor homolog TRPV2-TRPV6 sehingga merupakan agen analgesik yang poten (Fattori *et al*, 2016: 33). Meskipun demikian, penggunaan capsaicin dalam bidang pengobatan masih terbatas karena memiliki efek samping memberikan sensasi panas (*pungent*) yang mengiritasi kulit dan membran mukosa serta bersifat nociceptik (Huang *et al*. 2013: 2668).

Sintesis dan evaluasi terhadap senyawa turunan capsaicin yang tidak memberikan efek *pungent* telah dilakukan melalui penambahan gugus nitrit oksida

pada cincin *vanillyl*, dimana selain tidak mengiritasi mukosa dan bersifat nociceptik, juga memiliki aktivitas analgesik yang lebih tinggi. Senyawa turunan capsaicin dengan donor nitrit oksida ini merupakan kandidat baru dalam penemuan dan pengembangan obat anti-neuropati (Ge *et al*, 2011: 76).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk penemuan dan pengembangan obat adalah metode *in silico*. Metode *in silico* merupakan suatu metode yang menggunakan kemampuan komputer dalam merancang obat, sebagai komplemen dari *in vitro* dan *in vivo* (Pranowo, 2011: 113).

Adapun jenis-jenis penelitian *in silico* dalam percancangan suatu obat yang umumnya digunakan antara lain melalui penelusuran dan analisis hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas (HKSA), *searching* farmakofor, *virtual screening*, *docking* molekul dan pengkajian toksisitas dan profil farmakokinetik.

HKSA dapat digunakan untuk mempelajari hubungan antara struktur molekul dengan aktivitas biologisnya yang dinyatakan secara kuantitatif dimana metode ini sangat cocok untuk memprediksikan senyawa obat untuk penyakit-penyakit yang mematikan (Asmara & Siswanta, 2015: 20). *Searching* farmakofor dan *docking* molekul digunakan untuk memodelkan interaksi dari suatu kompleks molekul sementara *virtual screening* merupakan suatu metode penapisan senyawa dalam jumlah besar untuk mencari senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai obat baru (Reddy *et al*. 2007: 329). Adapun toksikologi *in silico* dapat membantu mengidentifikasi toksisitas senyawa agar dapat dilakukan pemilihan calon senyawa untuk dioptimasi dan dikembangkan sebagai calon obat baru yang potensial (Pratiwi *et al*. 2016: 23)

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas (HKSA) serta fitur farmakofor senyawa turunan capsaicin sebagai agen analgesik dan *virtual screening* berdasarkan fitur farmakofor, prediksi farmakokinetik juga prediksi toksisitas terhadap senyawa bioaktif tanaman-tanaman khas Indonesia sebagai bagian dari pengembangan senyawa obat baru yang berperan dalam mengatasi nyeri neuropati perifer.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana model persamaan HKSA senyawa turunan capsaicin sebagai antagonis reseptor TRPV1 ?
2. Bagaimana fitur farmakofor ligan aktif sebagai antagonis reseptor TRPV1 ?
3. Senyawa-senyawa apa saja berdasarkan *virtual screening* dari senyawa bioaktif tanaman-tanaman Indonesia yang dapat berfungsi sebagai antagonis reseptor TRPV1 ?
4. Bagaimana model interaksi senyawa hasil *virtual screening* sebagai antagonis reseptor TRPV1 berdasarkan fitur farmakofor ?
5. Bagaimanakah prediksi toksisitas dan farmakokinetik senyawa hasil *virtual screening* terpilih secara *in silico* ?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Definisi Operasional

- a. Nyeri adalah pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang memiliki dampak signifikan terhadap kualitas hidup seseorang.
- b. Nyeri neuropatik adalah nyeri yang disebabkan oleh lesi atau penyakit sistem saraf somatosensori.
- c. Nyeri neuropatik perifer didefinisikan sebagai nyeri yang disebabkan oleh lesi atau gangguan pada sistem saraf somatosensori perifer.
- d. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) merupakan pendekatan yang bertujuan untuk melihat parameter fisika-kimia yang paling penting dalam menentukan bagaimana senyawa organik berinteraksi dengan makromolekul dan untuk menetapkan skala numerik masing-masing senyawa. Pada tahap pengembangan ini, sifat yang paling penting adalah AM₁dipole, AM₁-E, AM₁-E_{ee}, AM₁_HF, AM₁_HOMO, AM₁_LUMO, ASA_H, ASA_P, glob, log P (0/w), log S, mr, vdw_vol, vol dan VSA (Hansch, 1981: 267).
- e. Farmakofor merupakan posisi geometrik tiga dimensi dari gugus-gugus yang terdapat di dalam suatu ligan yang membentuk suatu pola yang unik dan dapat dikenali oleh reseptor secara spesifik yang bertanggung jawab terhadap proses pengikatan ligan dengan suatu reseptor dan aktivitas reseptor tersebut.
- f. *Virtual screening* didefinisikan sebagai proses evaluasi secara otomatis terhadap kumpulan data senyawa yang sangat besar menggunakan bantuan program komputer yang bertujuan untuk menemukan dan mengidentifikasi senyawa yang baru (novel) dan mempunyai aktivitas poten terhadap target yang dituju.

- g. *Docking* molekul adalah suatu teknik yang digunakan untuk memodelkan interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. *Docking* molekul dapat memprediksi orientasi dari suatu molekul ketika berikatan sehingga membentuk kompleks yang stabil.
- h. Farmakokinetik adalah ilmu yang khusus mempelajari perubahan-perubahan konsentrasi dari obat dan metabolitnya di dalam darah dan jaringan sebagai fungsi dari waktu sebagai hasil dari proses yang dilakukan tubuh terhadap obat, yaitu resorpsi, transportasi, biotransformasi (metabolisme), distribusi dan ekskresi.
- i. Toksisitas adalah kemampuan suatu bahan atau senyawa kimia untuk menimbulkan kerusakan pada saat mengenai bagian dalam atau permukaan tubuh yang peka. Uji toksisitas digunakan untuk mempelajari pengaruh suatu bahan kimia toksik atau bahan pencemar terhadap organisme tertentu.

2. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini yaitu menentukan sifat fisika-kimia dari senyawa turunan capsaicin dan perannya sebagai antagonis reseptor TRPV1 berdasarkan model HKSA, menentukan fitur farmakofor senyawa turunan capsaicin dan peranannya sebagai antagonis reseptor TRPV1, melakukan *virtual screening* senyawa-senyawa *natural product* tanaman khas Indonesia yang berpotensi sebagai antagonis reseptor TRPV1 berdasarkan fitur farmakofor senyawa turunan capsaicin, mengamati interaksi yang terjadi antara senyawa turunan capsaicin hasil *virtual screening* terhadap situs pengikatan reseptor TRPV1 serta melakukan prediksi terhadap farmakokinetik dan toksisitas.

D. Kajian Pustaka

1. N. Malek *et al*, (2015) dengan judul penelitian “*The Importance of TRPV1 Sensitisation Factors for The Development of Neuropathic Pain*” menjelaskan bahwa reseptor TRVP1 berperan penting dalam mekanisme nyeri. Reseptor TRVP1 merupakan penghantar rangsangan nyeri pada saraf aferen nociceptor primer ketika terjadi cedera pada saraf. Aktivitas sensititasi oleh TRVP1 dengan menggunakan model CCI (*Chronic Constriction Injury*) terutama karena fosforilasi yang diperantarai oleh PKC ϵ . Karena aktivitasnya tersebut, maka TRPV1 merupakan salah satu target baru untuk terapi nyeri neuropati.
2. Fan & Zheng (2016) dengan judul review “*Understand Spiciness : Mechanism of TRPV1 Channel Activation by Capsaisin*” menyatakan bahwa senyawa capsaicin memiliki afinitas, sensitivitas dan selektifitas pada reseptor TRPV1 dan tidak mengaktifkan homolog reseptor TVRP2-TRVP6. Hal ini dipengaruhi struktur capsaicin dengan gugus *vanillyl* sebagai bagian kepala dan gugus amida sebagai bagian leher memberikan spesifitas terhadap *vanilloid pocket* pada reseptor TRVI. Interaksi spesifik antara capsaicin dengan reseptor TRVP1 menjadikan capsaicin sebagai agen analgesik yang poten dan perlu dikembangkan.
3. Fattory *et al*, (2016) dengan judul review “*Capsaicin : Curent Understanding of Its Mechanisms and Therapy of Pain and Other Pre-Clinical and Clinical Uses*” menjelaskan bahwa capsaicin merupakan agen analgesik yang sangat potensial yang bekerja dengan mendesensititasi reseptor TRVP1 pada sistem saraf sehingga rangsangan nyeri tidak dapat diteruskan. Penggunaan formulasi topical baik krim, *lotion* maupun *patch* setiap hari selama 2 sampai 6 minggu

memiliki efek yang bermanfaat untuk mengatasi berbagai variasi gejala nyeri, termasuk neuralgia pasca herpes, diabetik neuropati dan nyeri otot kronik. Formulasi Capsaicin patch 8% banyak digunakan untuk mengatasi neuralgia pasca herpes, neuropati HIV dan beberapa kondisis lain dengan gejala neuropati. Penggunaan capsaisin 8% secara topical cepat terserap ke dalam kulit dan mampu mengurangi efek sistemik yang tidak diinginkan. Penggunaan 8% capsaicin secara topical selama 12 minggu pada pasien neuralgia pasca herpes terbukti secara signifikan menurunkan nyeri. Sementara pada pasien neuropati pasca trauma penggunaan 8% capsaicin *patch* menurunkan 80% area *allodyna* setelah 18 bulan pemakaian. Namun, disamping potensinya yang besar sebagai agen analgesik topical, penggunaan capsaicin secara topical ini memiliki efek samping yang terjadi yaitu sensasi terbakar (*burning*) baik pada penggunaan dosis rendah ataupun dosis tinggi, dapat menyebabkan hipertermia dan bersifat neurotoksik.

4. Ge *et al* (2011) dengan judul penelitian “*Synthesis and Biological Evaluation of Nitric Oxide-Releasing Derivatives of Capsaicin as Analgesia Drugs*” melakukan sintesis terhadap turunan senyawa capsaicin dengan penambahan nitrit oksida pada gugus *vanillyl* untuk menurun efek *pungency* yang dapat mengiritasi membran mukosa. Evaluasi terhadap aktivitas biologi senyawa turunan capsaicin ini dilakukan dengan tiga pengujian, yaitu pengujian terhadap aktivitas agonis TRVP1 yang dilakukan dengan mengamati peningkatan kadar Ca^{2+} dalam sel, pengujian aktivitas pelepasan nitrit oksida dengan metode *Greiss assays* dan pengujian aktivitas analgesik dengan metode *tail-immersion test* pada tikus. Hasil menunjukkan bahwa semua senyawa

meningkatkan influks Ca^{2+} lebih baik dari capsaicin, memiliki aktivitas pelepasan nitrit oksida dan beberapa senyawa secara signifikan menghambat reaksi *tail-immersion* pada tikus lebih baik dibanding capsaicin sehingga memiliki aktivitas analgesik yang lebih poten.

5. Huang *et al*, (2013) dengan judul penelitian “ *Capsaicin and Its Analogues : Structure-Activity Relationship Study* “ meneliti senyawa turunan capsaicin dengan melakukan modifikasi terhadap tiga bagian utama dari struktur capsaicin yaitu gugus *vanillyl* (bagian kepala) sebagai bagian A, gugus amida (bagian leher) sebagai bagian B dan rantai hidrofobik (bagian ekor) sebagai bagian C lalu menghubungkan dengan aktivitasnya terhadap influks Ca^{2+} (EC_{50}). Penelitian ini menemukan beberapa senyawa turunan yang memiliki efek lebih baik dibandingkan dengan capsaicin. Pada modifikasi bagian A aktivitas antagonis meningkat dengan penggantian gugus OH pada cincin aromatik dengan gugus nitro. Pada modifikasi bagian B, aktivitas antinoseptik dari senyawa turunan capsaicin meningkat bukan hanya lebih baik dibanding indometasin tetapi juga prekursornya (*vanillyl decanoate*) dengan pemanjangan rantai alkoksil pada posisi C4. Adapun pada modifikasi bagian C, potensi analgesik dari capsaicin meningkat dengan bertambahnya panjang rantai hidrofobik asam lemak 8-12 atom karbon. Sedangkan senyawa dengan panjang rantai lebih dari itu memiliki aktivitas rendah dan tidak memiliki aktivitas lagi.
6. Xuan *et al* (2015) dengan judul penelitian “ *Identification of a Potential Target of Capsaicin by Computational Target Fishing*” meneliti tentang target potensial capsaicin dengan melakukan penelusuran farmakofor melalui *reverse*

docking yang kemudian dikonfirmasi menggunakan *Chemical Protein Interactom (CPI)* dan *docking* molekul. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bagian hidrofobik dari molekul capsaicin terletak pada rantai asam lemak dan pada ikatan atom C3 cincin *vanillyl*, muatan positif terletak pada gugus amida, muatan negatif terletak pada atom O dari gugus hidroksil di posisi C7 dan atom O di posisi C6 dari gugus *vanillyl* serta gugus karbonil yang terikat pada gugus amida, donor ikatan hidrogen terletak pada atom N dan H pada gugus amida serta atom H pada gugus hidroksil yang terletak di posisi C7 cincin *Vanillyl*, adapun akseptor ikatan hidrogen terletak pada bagian dengan muatan negatif dari molekul capsaicin. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar untuk menentukan target potensial dari molekul capsaicin beserta dengan mekanisme kerjanya.

7. Hanson *et al* (2015) dengan judul penelitian “ *Capsaicin Interaction with TRVP1 Channels in Lipid Bilayer : Molecular Dynamic Stimulation* ” membahas bagaimana capsaicin yang bersifat hidrofobik dapat berpindah dari bagian ekstraseluler melintasi membran fosfolipid bilayer masuk ke bagian fase air intraseluler sel untuk dapat berikatan dengan reseptor TRVP1 menggunakan metode molecular dinamik. Penelitian ini menjelaskan proses *flip-flop* molekul capsaicin melintasi bilayer membran hingga dapat mencapai *binding sitenya* pada reseptor yang terletak dalam sitosol melalui gambaran lokalisasi capsaicin dalam membran juga dengan menghitung *free energy profile*. Penelitian ini menunjukkan bahwa ikatan antara bagian A (cincin aromatic *gugus vanillyl*) dengan bagian lipid distabilkan oleh ikatan hidrogen gugus hidroksil dan atom O yang berinteraksi dengan residu Y511 dan T550.

Penelitian memberikan pemahaman bagaimana mengembangkan senyawa yang lebih baik dengan target reseptor TRVP1 seperti senyawa capsaicin.

E. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Tujuan Penelitian

- a. Menemukan model persamaan HKSA senyawa turunan capsaicin sebagai antagonis reseptor TRVP1 untuk mengatasi penyakit neuropati perifer.
- b. Menemukan farmakofor senyawa turunan capsaicin sebagai antagonis reseptor TRVP1 untuk mengatasi penyakit neuropati perifer.
- c. Menemukan senyawa aktif hasil *virtual screening* yang berpotensi sebagai antagonis reseptor TRVP1 berdasarkan fitur farmakofor senyawa turunan capsaicin.
- d. Mengamati model interaksi senyawa hasil virtual screening terhadap situs pengikatan (*binding site*) reseptor TRPV1 melalui teknik *docking* molekul
- e. Menemukan prediksi toksisitas dan farmakokinetik senyawa hasil *virtual screening* terpilih secara *in silico*.

2. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh prediksi aktivitas melalui studi HKSA serta penelusuran fitur farmakofor dan *docking* molekul yang akan digunakan dalam menentukan senyawa turunan capsaicin yang akan disintesis dan diuji lebih lanjut sebagai senyawa anti neuropati perifer. Selain itu, hasil *virtual screening* yang dilakukan terhadap senyawa bioaktif tanaman endemik Indonesia berdasarkan fitur farmakofor dari senyawa turunan capsaicin diharapkan dapat membantu untuk memperoleh senyawa yang dapat dikembangkan sebagai antagonis reseptor TRPV1 dan didukung dengan adanya prediksi toksisitas dan farmakokinetik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas

Hubungan kuantitatif struktur kimia dan aktivitas biologis obat (HKSA) merupakan bagian penting rancangan obat, dalam usaha mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, keselektifan yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping yang sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar. Selain itu dengan menggunakan model HKSA, akan lebih banyak menghemat biaya atau lebih ekonomis, karena untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang dikehendaki, faktor coba-coba ditekan sekecil mungkin sehingga jalur sintesis menjadi lebih pendek (Verma dkk, 2010: 95-115).

Pendekatan hubungan struktur dan aktivitas biologis mulai berkembang dengan pesat dengan dipelopori oleh Corwin Hansch dan kawan-kawan, yang menghubungkan struktur kimia dan aktivitas biologis obat melalui sifat-sifat kimia fisika umum seperti kelarutan dalam lemak, derajat ionisasi atau ukuran molekul. Setelah itu hubungan kuantitatif antara aktivitas biologis dan parameter yang menggambarkan perubahan sifat kimia fisika yaitu parameter hidrofobik, elektronik dan sterik (Verma dkk, 2010: 95-115).

a. Model Pendekatan HKSA Free-Wilson

Free dan Wilson (1964) mengembangkan suatu konsep hubungan struktur dan aktivitas biologis obat yang dinamakan model *de novo* atau model matematik Free-Wilson. Bahwa respon biologis merupakan sumbangan aktivitas dari gugus-gugus substituen terhadap aktivitas senyawa induk.

kekurangan model Free-Wilson antara lain:

- 1) Tidak dapat digunakan bila efek substituen bersifat tidak linier atau bila ada interaksi antar substituen
- 2) Memerlukan banyak senyawa dengan kombinasi substituen bervariasi untuk dapat menarik kesimpulan yang benar

Kelebihan model Free-Wilson antara lain :

- 1) Dapat menghubungkan secara kuantitatif antara struktur kimia dan aktivitas biologis dari turunan senyawa dengan bermacam-macam gugus substitusi pada berbagai zona
- 2) Model ini digunakan bila tidak ada data tetapan kimia fisika dari senyawa-senyawa yang diteliti dan uji aktivitas lebih lambat dibanding dengan sintesis turunan senyawa

b. Model Pendekatan HKSA Hansch

Hansch (1963) mengemukakan konsep bahwa hubungan struktur kimia dengan aktivitas biologis ($\log 1/IC_{50}$) suatu turunan senyawa dapat dinyatakan secara kuantitatif melalui parameter-parameter sifat kimia fisika dari substituen yaitu parameter hidrofobik (π), elektronik dan sterik. Model ini disebut model hubungan energi bebas linier atau penekatan ekstra termodinamik.

1) Deskriptor elektronik

a) Parameter elektronik Hammett (σ , σ^+ , dan σ^-)

Parameter elektronik Hammett, σ , σ^+ , dan σ^- , digunakan untuk menentukan efek substituen pada sistem aromatik. σ normal digunakan untuk substituen pada sistem aromatik yang tidak terjadi interaksi resonansi kuat antara substituen dan reaksi pusat.

Sebaliknya, σ^+ , dan σ^- digunakan ketika terdapat interaksi resonansi yang kuat antara substituen dan reaksi pusat (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899).

Persamaan Hammett, yang berhubungan dengan laju atau konstanta keseimbangan reaksi rantai samping senyawa aromatik tersubstitusi pada daerah *meta*- dan *para*- merupakan salah satu hubungan energi bebas linear yang paling khas dan berguna hingga saat ini. Seperti yang disajikan pada persamaan umum berikut ini

$$\log K_X - \log K_H = \rho \sigma$$

dimana K_H merupakan konstanta laju untuk senyawa aromatik yang tak tersubstitusi, K_X untuk turunan aromatik tersubstitusi di daerah *meta*- dan *para*-, σ merupakan konstanta substituen untuk substituen yang dicari, dan ρ merupakan konstanta reaksi. Nilai kesatuan untuk konstanta ρ pada keseimbangan ionisasi asam benzoat tersubstitusi pada air suhu 25°C dipastikan dengan dasar pada hasil eksperimen. Istilah σ umumnya didefinisikan sebagai pengukuran ukuran efek elektronik untuk substituen yang diberikan yang mewakili pengukuran distribusi muatan elektronik pada inti benzen. Nilai positif dari σ berarti penarikan elektron oleh substituen dari cincin aromatik sementara nilai negative dari σ berarti pelepasan elektron (relatif terhadap H) terhadap cincin. Oleh karena itu, nilai positif ρ menandakan laju percepatan reaksi dengan penarikan elektron pada daerah reaksi. Sementara nilai negative dari ρ menandakan bahwa reaksi dibantu oleh substituen pelepas elektron. Untuk mengetahui pengaruh resonansi pada laju reaksi, dua konstanta lainnya, σ^+ (substituen elektrofilik) dan σ^- (substituen nukleofilik), mulai diperkenalkan dan hubungan bebas energi linear kemudian diubah menjadi (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899) :

$$\log K_X - \log K_H = \rho^+ \sigma^+ \text{ atau } \rho^- \sigma^-$$

b) Konstanta Swain – Lupton (F dan R)

F dan R , konstanta *field* dan resonansi, diusulkan oleh Swain dan Lupton sebagai variabel independen untuk korelasi atau memprediksi efek substituen. Mereka mengevaluasi efek *field* substituen, F , menggunakan parameter Hammet (σ_m dan σ_p) berdasarkan pada persamaan:

$$F = a\sigma_m + b\sigma_p$$

Pada persamaan ini, koefisien a dan b dievaluasi dengan metode *least-square*. σ_m dan σ_p merupakan konstanta σ Hammet untuk substituen *meta*- dan *para*- secara berurutan. Untuk menghitung nilai R , Swain dan Lupton mengusulkan persamaan dengan asumsi bahwa $R = 0$ untuk $N^+(CH_3)_3$

$$\sigma_p = \alpha F + R$$

Dengan mensubstitusi persamaan diatas dengan nilai $F = 0.89$, $\sigma_p = 0.82$, dan $R = 0$ untuk $N^+(CH_3)_3$, maka ditemukan nilai α adalah 0.921. F dan R kemudian dihitung untuk substituen apa saja yang nilai σ_m dan σ_p telah diketahui (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899).

c) Muatan atom (q)

Efek substituen baik pada muatan atom dan pergeseran kimia mencerminkan efek substituen elektronik (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899)

d) Energi Disosiasi Ikatan (*Bond Dissociation Energy*)

Energi ikatan disosiasi, pengukuran kekuatan ikatan pada ikatan kimia, didefinisikan sebagai perubahan entalpi standar ketika ikatan dipotong dengan homolisis pada suhu spesifik. Hal tersebut diamati pada penelitian sebelumnya yang menghitung energi disosiasi ikatan homolisis OH dapat disajikan sebagai parameter elektronik untuk fenol, yang kemudian selanjutnya didukung dengan korelasi yang

baik antara energi disosiasi ikatan dan σ^+ substituen X ($n = 19$, $r = 0.982$) untuk seri 4-X-fenol (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899).

e) EHOMO, ELUMO, dan EHOMO – ELUMO (Celah H – L)

Berdasarkan teori orbital terdepan, energi dari the highest occupied molecular orbital (EHOMO) dan the lowest unoccupied molecular orbital (ELUMO) dapat menentukan kinetika reaksi kimia. Pada beberapa tahun belakangan ini, EHOMO, ELUMO, dan EHOMO – ELUMO (Celah H – L) telah berhasil digunakan sebagai deskriptor elektronik pada berbagai model HKSA.

EHOMO berhubungan dengan kapasitas molekul untuk mendonasikan elektron kepada aseptor dengan orbital molekul yang kosong. Oleh karena itu, molekul dengan EHOMO yang tinggi akan memiliki kemampuan mendonorkan elektron yang lebih tinggi dan akan lebih reaktif. Sebaliknya, ELUMO menunjukkan kemampuan molekul untuk menerima elektron. Oleh karena itu, molekul yang berhubungan dengan nilai ELUMO rendah akan menjadi aseptor elektron yang kuat dibandingkan dengan molekul yang memiliki nilai yang tinggi. Hal inilah yang menjadi alasan nilai ELUMO meningkat dengan adanya pengaruh EDG (Electron Donating Groups) (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899).

2) Deskriptor Hidrofobik

Parameter hidrofobik merupakan salah satu deskriptor molekul yang paling penting dan sering digunakan pada studi HKSA karena kegunaannya pada prediksi farmakokinetik obat dan oleh karena itu, sangat berpengaruh pada nasib molekul obat baru. Hidrofobisitas molekul secara tradisional diekspresikan sebagai logaritma koefisien partisi ($\log P$) untuk partisi molekul antara fase organik dan fase air. Fase organik meniru interaksi fosfolipid membran sel. Semenjak Hansch *et al.*

mempelopori logaritma koefisien partisi antara *n*-oktanol dan air ($\log P_{\text{oct}}$ atau $\log P$) telah digunakan secara luas sebagai deskriptor hidrofobik pada analisis HKSA (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899).

3) Deskriptor Sterik

Parameter ES Taft merupakan parameter yang pertama yang berhasil untuk menghitung fitur sterik berbagai gugus fungsi pada analisis HKSA, yang ditunjukkan dalam persamaan:

$$ES = \log(kX/kH)_{\text{asam}}$$

dimana *kX* dan *kH* merupakan konstanta laju untuk hidrolisis asam dari ester, *XCH₂COOR* dan *CH₃COOR* berurutan. Parameter sterik lain yang umum digunakan pada pengembangan model HKSA adalah refraktivitas molar (*mr*), volume molar (*MgVol*), berat molekul (*BM*), dan parameter strimol Verloop seperti panjang (*L*), luas minimum (*B1*) dan luas maksimum (*B5*) (Verma & Hansch, 2011: 2865-2899).

1. *Leave One Out Cross Validation (LOOCV)*

Partial least square (PLS) adalah teknik regresi yang mengaplikasikan metode PCA. Di bidang seperti kimia yang melibatkan sangat sedikit data observasi karena eksperimen yang mahal, *time consuming*, dll, PLS sangat sering digunakan. Perbedaan yg mencolok antara PLS dan regresi linear biasa yang juga melibatkan banyak variabel (*multiple linear regression*, MLR) adalah PLS dapat terhindar dari jebakan *co-linearity* antara variabel. Selain itu, PLS juga dapat menghasilkan model yang cukup akurat dengan data yang sedikit dan variabel yg banyak. PLS juga dapat memprediksi banyak variabel dependen secara sekaligus.

Prinsip kerja PLS sama dgn PCA. Beberapa variabel independen merangkum sebagian besar variasi di dalam data. Variabel-variabel ini disebut sebagai *latent*

factors. Inilah yang akan diambil pada PLS. Hal yang serupa juga dilakukan untuk variabel dependen. Variabel yang terpilih dari variabel dependen disebut *latent responses*. Model PLS juga diturunkan dengan metode *least squares*, sama seperti MLR. Hanya saja karena model ini hanya mengikuti *latent factors* atau hanya sebagian (*partial*) dari seluruh variabel yang ada, sehingga disebut *Partial Least Squares* (PLS) (Dehmer dkk, 2008: 1-5).

B. Pentautan Molekul

Secara umum, *docking* molekul adalah penggunaan komputerisasi dalam memasang suatu molekul kecil pada reseptor (bagian ini sering didefinisikan sebagai sisi aktif dari enzim) melalui representasi yang dihasilkan komputerisasi, yang diikuti oleh evaluasi struktur molekul dalam hal ini yaitu bentuk dan karakteristiknya seperti parameter elektrostatis. Subyek *docking* adalah pembentukan kompleks non kovalen protein-ligan. Suatu molekul dengan struktur yang baik mengindikasikan bahwa molekul tersebut potensial sebagai ligan pengikat yang baik. Hasil dari *docking* secara umum meliputi prediksi afinitas molekul, termasuk *ranking* dari senyawa yang di-*docking* berdasarkan pada afinitasnya. Pemodelan interaksi intermolekular kompleks ligand-protein tidaklah mudah karena berbagai derajat kebebasan dan kebatasan Komputasi efek pelarut pada ikatan asosiasi (Gao, 2007: 12; Abraham, 2003: 289; Nadendla, 2004 : 51).

Pemahaman tentang interaksi nonkovalen kompleks ligan-reseptor sangat penting untuk apresiasi mekanisme kerja obat serta rancangan obat yang rasional. Tujuannya adalah untuk memberikan gambaran tentang faktor-faktor fisik dan kimia yang berkontribusi paling signifikan terhadap kekuatan interaksi obat dan reseptor.

Bagian pertama terdiri dari deskripsi fisik dari pengaruhn kecocokan elektrostatik dan sterik pada berbagai jenis interaksi obat-reseptor *non-bonded*. Bagian kedua memberikan interpretasi yang lebih kimiawi, berkonsentrasi pada kekuatan intrinsik dari kontribusi gugus fungsional terhadap ainitas dari obat untuk reseptornya. Beberapa aplikasi praktis untuk kimiawan akan diusulkan. Konsep pengikatan akan dipaparkan dalam kesimpulan dalam rangka menggarisbawahi keterbatasan metode perhitungan aditif murni berdasarkan rata-rata energi pengikatan (Wermuth, 2008: 464).

Ketika terdapat ligan dan reseptor yang cocok berdekatan, ligan dapat berfusi dan berlabuh kedalam sisi pengikatan pada reseptor. Hal ini mungkin dimediasi oleh jarak interaksi elektrostatik antara ligan dan reseptor dan kemudian diperkuat dengan ikatan hidrogen jarak pendek dan interaksi Van der Waals. Pengikatan disertai dengan perubahan konformasi mulai dari pergeseran sederhana beberapa atom hingga pergerakan seluruh domain makromolekul. Ketika ligan merupakan obat, aktivitas biologisnya secara langsung akan berhubungan terhadap afinitasnya untuk reseptor, yaitu, stabilitas kompleks obat-reseptor. Kekuatan interaksi ini diukur melalui K_d , disosiasi konstan untuk kompleks pada titik kesetimbangan.

$$K_d = \frac{[\text{obat}][\text{reseptor}]}{[\text{kompleks}]}$$

Semakin kecil K_d dan semakin besar afinitas obat untuk reseptor. Konstanta disosiasi ini berkaitan dengan perubahan energi bebas *Gibbs* dimana terdiri dari sebuah entalpi (ΔH) dan kontribusi entropi (Wermuth, 2008: 464-465).

C. Searching Fitur Farmakofor

Istilah farmakofor digunakan oleh kelompok peneliti yang berbeda dan tidak selalu berdasarkan pada definisi resmi dari IUPAC yang menyatakan “Farmakofor merupakan *feature* sterik dan elektronik yang dibutuhkan untuk memastikan interaksi supramolekul yang optimal dengan target biologis yang spesifik dan untuk memicu atau menghalangi respon biologisnya”. Kebanyakan peneliti menggunakan istilah “farmakofor” atau “gugus farmokofor” untuk mendefinisikan gugus fungsi yang jelas atau kelas substansi yang memiliki aktivitas biologis, sebagai contoh: sulfonamida atau dihidropiridin. Pada konteks ini, istilah farmakofor digabungkan dengan konsep struktur dan aktivitas, yang disebut “struktur istimewa”. Analisis retrospektif struktur kimia dan rangka molekul obat membawa pada deteksi beberapa motif struktur yang sering berhubungan dengan aktivitas biologis. Motif seperti ini disebut “struktur istimewa” oleh Evan *et al.* untuk menggambarkan substruktur yang memberi aktivitas terhadap dua atau lebih target yang berbeda. Gagasan ini berasal dari struktur istimewa yang menyediakan rangka dan alasan substitusi untuk spesifitas. Bagaimanapun, pada istilah yang digunakan definisi IUPAC, farmakofor menggambarkan *feature* interaksi molekul yang umum dari sekelompok molekul terhadap reseptornya (Wermuth, 2008: 573).

Elemen farmakofor (juga disebut *feature*) umumnya didefinisikan sebagai sebuah atom atau sekelompok atom (contoh, ikatan hidrogen pendonor atom atau sistem cincin aromatik) yang umum untuk mengaktivasi senyawa dengan respek terhadap protein target dan esensial untuk aktivitas. Oleh karena itu, model farmakofor juga dapat dilihat sebagai gambaran dari kumpulan *feature* farmakofor (Wermuth, 2008: 573).

Definisi farmakofor yang digambarkan diatas berdasarkan pada titik pandang 3D molekul. Hal ini mencerminkan cara ahli kimia medisinal mencirikan kemampuan pengikatan molekul pada protein target. Bagaimanapun, perbedaan pada daerah yang diteliti menyebabkan peneliti memiliki pandangan yang berbeda. Ahli kimia komputasi sering menggunakan istilah farmakofor pada arah yang lebih abstrak. Dipengaruhi oleh gambaran struktur molekul, sekumpulan hubungan topologi digunakan untuk mendefinisikan sifat dan dimensi molekul pada 2D. Disini, distribusi spasial dan topologi *feature* farmakofor dikonfersi hingga gambaran dimensi yang lebih rendah, sebagai contoh, vektor. Vektor, yang menggambarkan deskriptor farmakofor, dimaksud sebagai “*fingerprints*”, “*keys*”, “*bitstrings*”, atau “*correlation vectors*” tergantung pada jenis informasi yang disimpan. Deskriptor farmakofor atau *fingerprints* dapat dianggap sebagai gambaran molekul yang berubah dan bukan eksplisit struktur 3D. *Fingerprints* ini sering digunakan untuk *skrining* secara cepat dari sekumpulan senyawa yang besar (Wermuth, 2008: 573).

Farmakofor menggunakan konsep bioisoterisme dengan tidak hanya membandingkan kemiripan topologi tapi juga gugus struktur pada daerah yang sama dengan fungsi kimia yang sama. Sangat penting untuk fokus pada *feature* farmakofor karena sifat molekul topologi sering membingungkan pada superposisi dari dua molekul dengan respek pada mode pengikatannya. Untuk dua ligan yang ditampilkan *overlay* topologi akan menghasilkan prediksi yang salah pada mode pengikatan. Jika *feature* farmakofor diperhitungkan untuk superimposisi mode *overlay* yang benar dapat disimpulkan. Farmakofor yang berdasarkan superimposisi yang sama pada mode pengikatan diamati pada struktur kristal methotreksat dan dihidrofolat dengan dihidrofolatreduktase (Wermuth, 2008: 574).

Peningkatan jumlah senyawa yang dapat diakses, dapat digunakan sebagai titik awal untuk target *skrining* biologis untuk memperoleh alat *skrining in silico* yang cepat dan dapat dipercaya. Metode yang berdasarkan pada struktur sering terlalu lambat dalam virtual *skrining* database senyawa dengan jutaan molekul. Selain kecepatan, terdapat masalah lain pada desain berbasis struktur dan program *docking* yang dibutuhkan untuk digunakan. Sebagai contoh, kebanyakan program *docking* pada saat ini tidak memperhitungkan fleksibilitas protein. Hanya baru-baru ini terdapat program yang dikembangkan (contoh, Autodock, GOLD3.0, Glide, atau FlexE) yang memperhitungkan fleksibilitas rantai samping protein untuk *docking*. Masalah lain yang sering terjadi pada *docking* ligan adalah penempatan yang tepat molekul air dalam daerah pengikatan (menggambarkan pasangan pengikatan ligan yang diduga), perlakuan efek solvasi (pada daerah ligan dan protein) dan pertimbangan *strain* internal ligan yang di-*docking*. Pendekatan berbasis struktur dapat menyediakan informasi tentang interaksi antara ligan dan makromolekul, tapi prediksi akurat afinitas pengikatan masih merupakan masalah yang tidak terselesaikan (Wermuth, 2008: 574).

Alasan lain mengapa pendekatan berbasis farmakofor sering digunakan pada desain obat adalah adanya struktur 3D yang hilang pada banyak makromolekul yang diinginkan. Banyak target obat sekarang ini merupakan *membrane-bounde* dan sejauh ini hanya beberapa protein membran yang berhasil dikristalisasi. Tidak adanya penentuan secara eksperimen struktur protein 3D, penggunaan pendekatan berdasarkan ligan tidak langsung, termasuk farmakofor, merupakan satu-satunya cara untuk mendesai molekul bioaktif yang baru secara rasional (Wermuth, 2008: 574).

Farmakofor *modeling* pada desain obat dengan bantuan komputer umumnya digunakan pada tiga domain. Yang pertama merupakan definisi terhadap *feature* farmakofor yang bersangkutan pada molekul obat yang diperlukan untuk memperoleh efek biologis tertentu dan untuk membangun HKSA yang jelas. Model farmakofor yang dikembangkan dengan baik, lebih cenderung pada informasi tentang dimensi pada rongga pengikatan reseptor, dapat digunakan untuk mendesain senyawa baru dan molekul yang lebih aktif yang cocok dengan model. Seringnya, model farmakofor seperti ini merupakan titik awal untuk analisis 3D-HKSA, sebagai contoh, CoMFA, dengan prediksi kuantitatif dapat dibuat. Yang kedua adalah loncatan rangka, yang mendeteksi molekul dengan rangka yang berbeda (*chemotypes* yang baru) dengan virtual *skrining* kumpulan senyawa yang besar. Yang terakhir adalah menggunakan skrining paralel berbasis farmakofor untuk memprediksi profil farmakologi untuk struktur induk *in silico*. Dengan menggunakan *fingerprints* farmakofor, diharapkan untuk memprediksi efek samping yang tidak diinginkan pada tahap yang paling awal pada proses penemuan obat dan oleh karena itu, mengurangi resiko kegagalan kandidat obat (Wermuth, 2008: 574-575).

D. Skrining Virtual

1. Skrining *In Silico* Berbasis Ligan

Terdapat beragam metode skrining virtual berbasis ligan. Berdasarkan tingkat kecanggihan, biaya komputasi utama, semua tergantung pada jenis informasi struktural yang digunakan. Pada semua kasus, umumnya diperoleh pengayaan signifikan pada pilihan acak dari molekul dalam database. Setelah prosedur pencarian, molekul dengan skor tertinggi dapat diprioritaskan untuk pengujian

eksperimental. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pencarian kesamaan memiliki sisi yang lebih murah dan lebih sesuai, semua molekul dalam database dapat di scoring melalui persamaan dengan satu atau beberapa ligan bioaktif dan kemudian diranking untuk menampilkan probabilitas penurunan dari bentuk aktif. Salah satu pendekatan yang paling sukses dalam hal ini adalah penggunaan *self-organizing* jaringan neural yang dapat menghasilkan proyeksi data set besar yang digambarkan dalam ruang dimensi tinggi. Hasil pemetaan *self-organizing* dapat digunakan dalam banyak aplikasi dalam proses penemuan obat, seperti untuk menganalisis perpustakaan kombinatorial untuk kesamaan dan keragamannya dan untuk memilih descriptor hubungan struktur-aktivitas. Teckentrup *et al* telah menggunakan metode ini untuk menganalisis satu set dari 5513 senyawa yang mengandung 185 hit yang teridentifikasi (hit rate 3.4%) (Wermuth, 2008: 218).

Berbeda dengan pendekatan topologi, metode yang didasarkan pada representasi geometri dari struktur molekul dapat digunakan sebagai pengganti. Diantaranya, superimposisi fleksibel molekul ke salah satu atau beberapa konformasi dari referensi ligan bioaktif sebagaimana metode yang mapan dalam skrining virtual. Metode yang lebih canggih seperti *searching* berbasis farmakofor dapat digunakan jika tingkat informasi tentang bioaktivitas ligan sudah lebih tinggi dan jika beberapa pengetahuan tersedia terkait hubungan struktur-aktivitas. Meski awalnya lambat untuk memperoleh pijakan industri, pendekatan farmakofor kemudian telah diterapkan pada banyak target terapi untuk *skrining* virtual database senyawa. Salah satu penerapan yang sukses menggunakan farmakofor dalam *skrining* virtual termasuk identifikasi berbagai target seperti protein kinase C, farnesyltransferase, HIV integrase, gen diferensiasi endotel antagonis reseptor, urotensin antagonis, CCR5

antagonis, dan penemuan inhibitor proliferasi sel mesangial, reseptor antagonis endotel, dan reseptor sigma ligan. Farmakofor juga telah menghasilkan berbagai ADME/protein terkait tox. Upaya ini menunjukkan bahwa *in silico searching* dengan pendekatan berbasis farmakofor memiliki fleksibilitas yang cukup dan dapat diterapkan pada target biological yang sulit (Wermuth, 2008: 219).

2. Skrining *In Silico* Berbasis Struktur

Skrining virtual berbasis struktur dari molekul 3D telah berhasil diterapkan untuk menemukan hit baru dalam desain berbasis struktur. Krier *et al* telah mengoptimasi inhibitor phosphodiesterase 4 menggunakan *docking* molekul dari perpustakaan kombinatorial. Barecca *et al* menggunakan generasi farmakofor 3D berbasis struktur dan *searching* database multikonformasional bersama dengan *docking* molekul untuk mengidentifikasi perancah baru dari HIV-1 *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NNRTIs). Rollinger *et al*, menggunakan pendekatan yang sama untuk menemukan inhibitor asetilkolin esterase dari database 3d senyawa alami. Wang dan rekan telah menemukan sebuah inhibitor transporter dopamine yang baru dan memiliki potensi melalui *searching* farmakofor 3D database dan modifikasi subsequent senyawa kimia sebagaimana inhibitor pada *Tritrichomonas fetus hypoxanthine-guaninexanthine phosphoribosyltransferase* (HGXPRT). Zhang *et al* telah mengidentifikasi beberapa *protein non-peptidic tirosin fosfat 1B* (PTB1B) yang berpotensi dan selektif menggunakan metode DOCK. *Skrining* virtual berbasis struktur yang sukses lainnya telah dijelaskan untuk reseptor β estrogen, *angiotensin converting enzyme-2*(ACE2), virus neuraminidase influenza, receptor peroxisome proliferators-teaktivasi (PPAR), *inhibitor dipeptidyl peptidase IV*, dan untuk inhibitor

HMG CoA *reductase*. Bahkan dengan tidak adanya penentuan ekperimental struktur 3D dari protein target, pendekatan tersebut dapat digunakan. Model homologi dalam kasus ini dapat menggantikan model yang telah ditentukan secara eksperimental dan *subsequent* eksperimen skrining virtual menghasilkan hasil yang memuaskan, seperti yang belum lama ditunjukkan oleh Evers dan Klabunde serta oleh Triballau *et al* (Wermuth, 2008: 219).

3. Prediksi Profil Afinitas Menggunakan Skrining *In Silico* Paralel

Dalam serangkaian review terbaru, Ekins, Mestres, Testa, dan Rognan melaporkan tren terbaru saat ini dalam *skrining* virtual, sekarang bertujuan pada pemodelan *in silico* dari *chemogenomic* dan dari efek yang berkaitan dengan polifarmakologi. Salah satu percobaan pertama untuk memprediksi profil aktivitas telah dijelaskan oleh Poroikov *et al.* pendekatan PASS didasarkan pada analisis hubungan struktur-aktivitas untuk *training set* dari molekul yang terdiri dari sekitar 35.000 senyawa biologis aktif yang diperoleh dari literatur. Dalam penelitian lainnya, hubungan antara struktur kimia dari 48 senyawa dan profil farmakologinya terhadap satu set lebih dari 70 reseptor, transporter, dan kanal yang terkait dengan sistem saraf pusat (SSP). Proyek berorientasi dianalisis, sepanjang garis yang sama, analisis kesamaan biospectra dilakukan dengan cara mengelompokkan satu set dari 1.567 obat yang mana persen nilai penghambatannya ditentukan pada konsentrasi tinggi ligan tunggal yang tersedia untuk set dari 92 tes. Masih pada studi lain, MDL Drug Data Report (MDDR) database digunakan sebagai sumber ligan terhubung dengan empat target kelas utama, yaitu nama, enzim, *G-protein-coupled receptors* (GPCRs), reseptor nuclear, kanal ligan-gated ion. Semua studi ini jelas menunjukkan bahwa

penelitian *skrining* virtual seharusnya tidak lagi terfokus pada sasaran tunggal melainkan pada seluruh *family* protein terkait atau pada jalur metabolisme. Teknik yang saat ini yang memungkinkan profiling *in silico* senyawa yang cepat dan efisien, bahkan sebelum mereka disintesis (Wermuth, 2008: 219).

E. Prediksi In Silico Sifat ADME/T

Kebanyakan penelitian tentang ADME/T dimulai dengan menyoroti kontribusi dari sifat-sifat ini pada tingkat kegagalan penemuan obat dan resultan biaya pemasangan yang membawa obat baru ke pasar. Sementara itu, jumlah obat yang dipasarkan yang ditarik kembali semakin meningkat, utamanya karena isu ADME/T yang tidak dapat dideteksi sebelumnya. Saat ini, banyak solusi diusulkan untuk mengidentifikasi dan mengalamatkan isu ini sebelum senyawa penuntun lain mencapai tingkatan klinik. Diantara mereka, peran awal sifat ADME/T dengan *in silico* telah luas diapresiasi. Biotransformation metabolik dari senyawa kimia baru dari kemenarikan yang tinggi karena sangat mempengaruhi bioavailabilitas, aktivitas, dan profil toksisitas (Xuan *et al*, 2011: 549-554).

F. Nyeri Neuropati

Nyeri adalah pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang memiliki dampak signifikan terhadap kualitas hidup seseorang. *The International Association for the Study of Pain (IASP)* mendefenisikan nyeri neuropatik sebagai nyeri yang disebabkan oleh lesi atau cedera pada sistem saraf somatosensori. Nyeri neuropati terbagi atas dua yaitu nyeri neuropati sentral dan nyeri neuropati perifer (*Neuropathic Pain Guidline*, 2014: 5).

Nyeri kronis merupakan masalah kesehatan yang umum. Perkiraan epidemiologi terbaru menunjukkan bahwa sepertiga dari populasi umum di dunia mengalami nyeri kronis. Perkiraan terbaru untuk nyeri neuropati adalah berkisar antara 7-16%. Diperkirakan hingga 25% pasien dengan diabetes mellitus mengalami neuropati, namun neuropati yang terjadi tidak spesifik dan dapat muncul dengan beragam etiologi (Toth, 2012: 81).

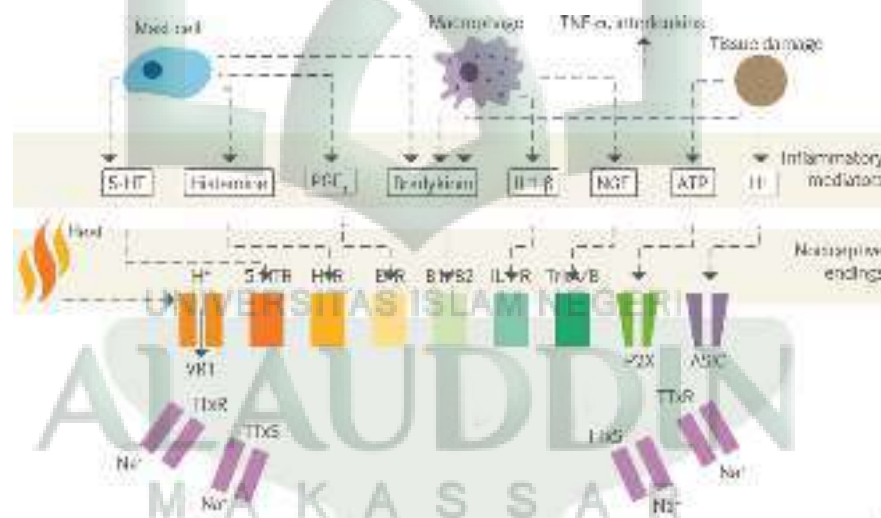
Beberapa gejala yang umumnya muncul pada nyeri neuropati diantaranya yaitu (Toth, 2012: 82) :

1. *Allodyna* : persepsi terhadap rangsangan non-berbahaya sebagai rasa nyeri.
2. *Hyperpathia* : peningkatan respon terhadap nyeri atau rangsangan yang tidak berbahaya.
3. *Hyperalgesia* : respon nyeri yang tertunda atau berlebihan terhadap rangsangan ringan.
4. *Paraesthesia* : sensasi spontan, tidak nyeri, abnormal (seperti tertusuk pin dan jarum, kesemutan)
5. *Dysthesia* : kelainan sensasi abnormal

Neuropati perifer terjadi akibat adanya lesi atau kerusakan pada sistem saraf yaitu pada sistem saraf somatosensori perifer. Neuropati perifer meliputi neuralgia pasca traumatik, neuralgia pasca herpes (PHN), neuropati perifer diabetik (DPN) dan neuropati- HIV (Sommer & Gruccu, 2017:1).

Ketika cedera, peradangan dan proses reparatoris terjadi pada saraf perifer, dapat menyebabkan keadaan *hyperexcitable* yang dikenal sebagai sensititasi perifer. Pada sebagian besar pasien, keadaan ini pulih saat peradangan mereda. Namun, ketika nociceptik berlanjut karena stimulasi berulang dari cedera atau penyakit yang

terjadi (misalnya penyakit diabetes), maka keadaan ini akan terus berlangsung. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap sensitivitas perifer yaitu mediator inflamasi seperti kalsitonin, peningkatan permeabilitas *vascular*, yang menyebabkan terjadinya edema lokal dan pelepasan mediator-mediator inflamasi seperti prostaglandin, bradikinin, *growth factors* dan sitokin. Mediator-mediator ini akan mensensitivasi nociceptor, menyebabkan penurunan ambang depolarisasi dan terjadinya *discharges* ektopik sehingga respon nociceptor terhadap stimulus termal dan mekanik akan meningkat. Banyaknya mediator yang dapat memperantai sensitivitas terhadap nociceptor inimerupakan hal yang mendasari tidak adanya obat khusus yang dapat bekerja sebagai antagonis target spesifik untuk mengatasi sensitivitas perifer (Cohen & Mao, 2014: 3).

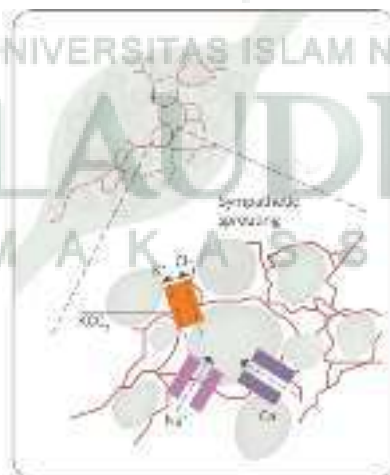


Gambar 1. Faktor-faktor yang berkontribusi terhadap nyeri neuropati perifer (Meacham *et al*, 2017: 3).

Salah satu hal yang mempengaruhi *discharges* ektopik pada serabut saraf setelah terjadi cedera adalah peningkatan ekspresi kanal natrium pada akar dorsal dan pada daerah disekitar terminal neuroma (bagian yang mengalami cedera). Studi

preklinik menunjukkan bahwa beberapa varian dari kanal natrium ternyata ikut terlibat dalam regulasi nyeri. Proliferasi pada kanal natrium heterotropik seperti Nav1.3, Nav1.7, and Nav1.8, dapat menurunkan ambang batas sel saraf dan memicu terjadinya *discharges* ektopik, menyebabkan nyeri spontan. Selain itu pembukaan kanal natrium dapat mengakibatkan sensititasi sentral, memicu terjadinya *allodynia*. Beberapa obat tambahan seperti karbamazepin bertindak sebagai pemblok kanal natrium. Namun karena obat ini tidak selektif untuk sub tipe kanal natrium yang berperan dalam regulasi nyeri, maka efek terapi yang dimilikinya rendah dan memiliki banyak efek samping.

Beberapa tipe tertentu dari kanal kalium (N-type, T-type, and L-type) dan sebagian kecil kanal kalium juga memegang peranan dalam regulasi nyeri neuropati. Setelah terjadi cedera pada serabut saraf, ekspresi dari kanal kalsium $\alpha 2\delta$ meningkat di daerah akar dorsal ganglia saraf, dan meningkatkan eksitabilitasnya. Kanal kalsium tervoltasi merupakan target aksi utama dari gabapentinoid, *first-line* terapi untuk nyeri neuropati (Cohen & Mao, 2014: 3).



Gambar 2. Ekspresi kanal ion pada akar dorsal ganglia (Cohen & Mao, 2014: 7).

G. Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V1(TRPV-1) sebagai Target Aksi Obat Anti-Neuropati

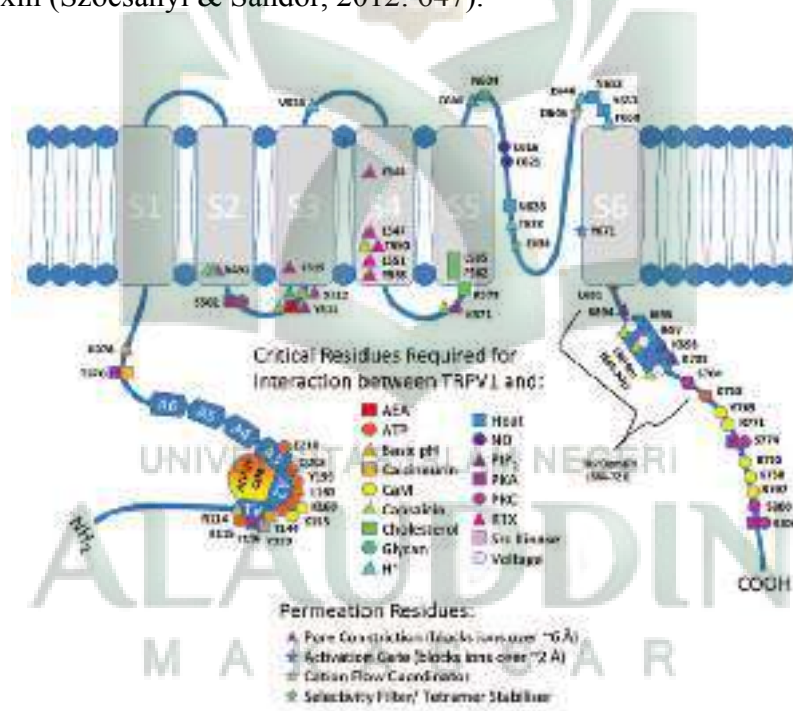
Transient Receptor Potential (TRP) merupakan reseptor kanal kation non-spesifik yang terdistribusi di berbagai jaringan, berlokasi di bagian terminal dari serabut saraf nociceptif dan juga terdapat pada kulit. *Transient Receptor Potential Channel Subfamily V member 1* (TRVP1) atau *Vanilloid Receptor 1* merupakan reseptor yang berada pada saraf nociceptif mamalia, terdapat pada bagian terminal serabut A δ dan C saraf aferen bebas yang berperan dalam penghantaran impuls nyeri (Elokely *et al*, 2015: 137).

Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1) merupakan reseptor terkait kanal kation non-selektif yang berperan penting dalam penghantaran signal noksius, terdapat pada sistem saraf perifer dan sistem saraf pusat, berfungsi dalam transduksi, transmisi, persepsi dan modulasi nyeri (Malek *et al*, 2015: 1).

Struktur TRPV1 berupa homotetramer, terdiri atas enam heliks transmembran (S1-S6) dengan N terminal dan C terminal pada yang berada pada bagian intraseluler (Eloky *et al*, 2015: 137). Struktur dari TRPV1 dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu N- dan C- terminal yang berada pada bagian intraseluler, enam heliks region transmembran (S1-S6) dan *pore domain (loop)* yang berada antara S5 dan S6 (Nagy *et al*, 2012: 56).

N terminus terdapat pada sitosol dengan *ankyrin repeat domain* (ARD) yang memiliki enam domain *ankyrin*. Penelitian menunjukkan bahwa ARD pada reseptor TRPV1 merupakan multi-ligan untuk situs pengikatan CaM dan ATP yang meregulasi desensititasi terkait Ca²⁺. C terminus berada pada bagian distal dengan TRP domain (E684-R721). C terminal berada dekat dengan gerbang kanal kation dan

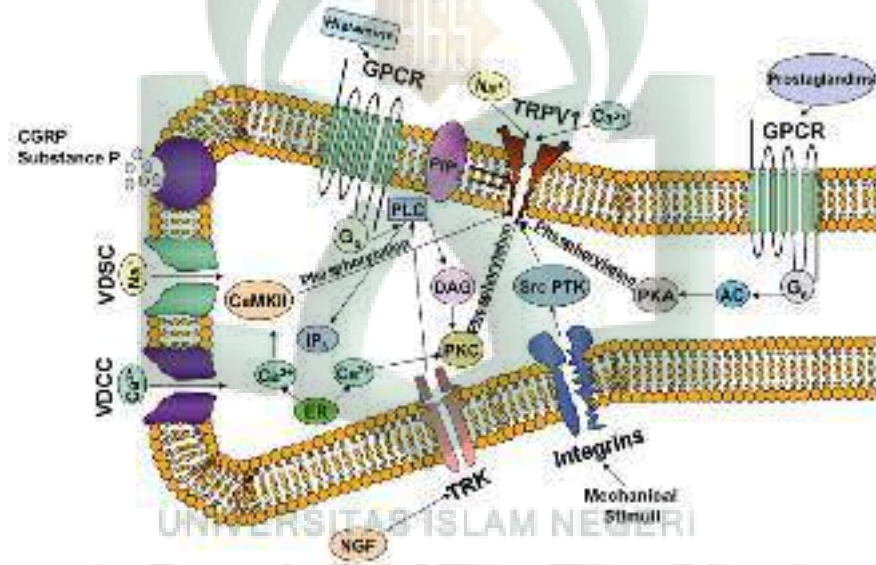
berperan dalam modulasi fungsi kanal tersebut. C terminal berperan penting dalam meregulasi tetramerisasi monomer TRPV1 serta mengatur pembukaan kanal ion melalui pengaturan sensitivitas kanal. *Pore domain* yang terletak diantara S5 dan S6 mengatur permeabilitas kanal terhadap kation divalent termasuk kalsium sehingga berperan pula dalam desensititasi terkait ion Ca^{2+} . Adapun bagian heliks S1-S4 berperan mengatur interaksi reseptor dengan capsainoid dan resiniferonoid (Nagy *et al*, 2014: 56-62). Diantara heliks S1 dan S4 terdapat bagian yang disebut sebagai *vanilloid pocket* situs pengikatan spesifik antara reseptor dengan capsaicin dan resiniferatoxin (Szocsányi & Sándor, 2012: 647).



Gambar 3. Ekspresi kanal ion pada akar dorsal ganglia (Cohen & Mao, 2014: 7).

TRPV1 diaktivasi oleh berbagai macam mediator proinflamasi dan mediator proalgiesik seperti temperatur di atas 43°C , adanya pH, bradikinin, *anandamide*, metabolit dari asam arakidonat, toksin, dan senyawa vanilloid (Elokely *et al*, 2015:

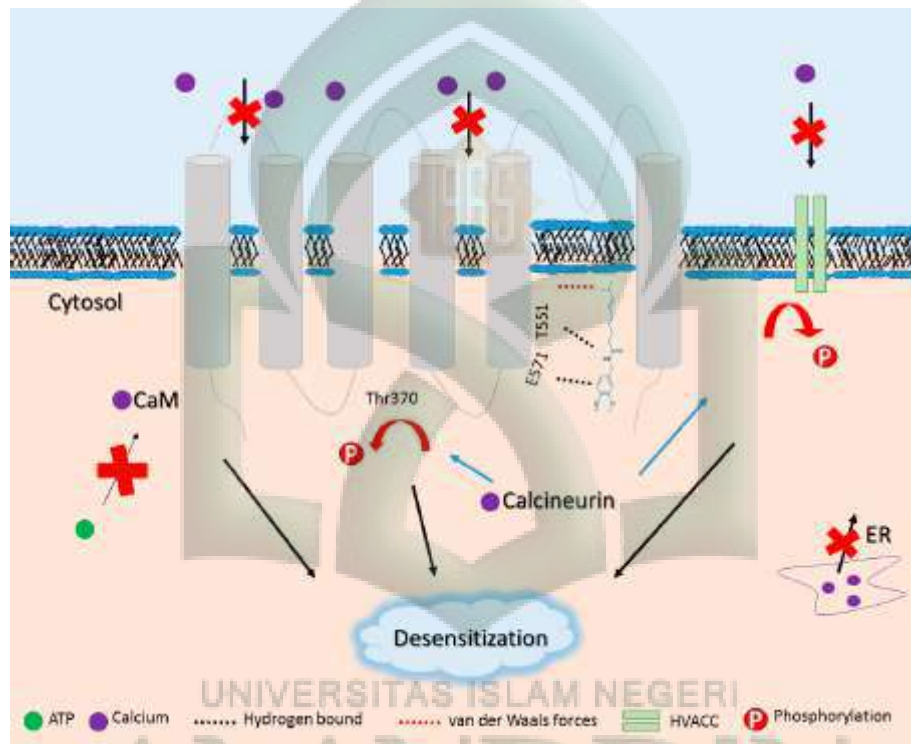
1). TRPV1 juga teraktivasi oleh adanya kation divalen seperti Mg^{2+} dan Ba^{2+} (Yang & Zheng, 2016: 2). Sensitivitas TRPV1 dalam modulasi impuls nyeri terjadi akibat adanya fosforilasi yang diperantarai oleh serin/treonin kinase termasuk protein kinase A (PKA), protein kinase (PKC), Ca^{2+} -dependent kinase 2 (CaMK 2) dan *cyclin-dependent* kinase 5 (Cdk5). Sementara itu, senyawa fosfat neuronal calsineurin berperan besar dalam proses defosforilasi TRPV1, akan menurunkan aktivitas kanal dan mendesensititasi sel saraf (Malek *et al*, 2015: 1).



Gambar 4. Faktor-faktor yang mendasari terjadinya fosforilasi dan aktivasi TRVP 1 (Jara-Oseguera *et al*, 2015: 32).

Aktivasi berkepanjangan dari reseptor TRPV1 akibat adanya senyawa vanilloid atau proton akan menyebabkan terjadinya desensitivitas ataupun insensitivitas reseptor tersebut yang akan menghilangkan fungsinya dalam menghantarkan rangsangan termasuk diantaranya rangsangan nyeri. Capsaicin akan berikatan pada reseptor di bagian *vanilloid pocket* secara spesifik yang kemudian dengan cepat akan meningkatkan influks ion kalsium dalam cairan intraseluler. Ion

Ca^{2+} selanjutnya akan berikatan dengan CaM dan mengaktifkan calcineurin fosfatase dan *calcium-calmodulin dependent* kinase II (CaMKII) (Nagy *et al*, 2014: 53). Pengikatan CaM pada bagian N terminus dari reseptor TRPV1 menyebabkan terjadinya defosforilasi dan akan mendesensititasi reseptor (Jara-Oseguera *et al*, 2015: 30).



Gambar 5. Proses desensititasi reseptor TRPV1 (Fattory *et al*, 2016: 6).

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kanal reseptor TRP, termasuk reseptor TRPV1 berhubungan dengan nyeri. Penghambatan kanal TRP pada saraf nociceptif merupakan target terapeutik baru untuk mengatasi nyeri (Huang & Szallasi, 2017:1).

TRVP1 berperan penting dalam mekanisme nyeri, fungsinya pada saraf nociceptif primer aferen yang apabila terjadi cedera saraf akan tereksitasi diyakini

merupakan penyebab utama nyeri neuropati (Malek *et al*, 2015: 4). TRVP1 merupakan target dalam mengontrol nyeri kronik dan nyeri akut dan merupakan kunci dari analgesia. Capsaicin dan senyawa vanilloid lainnya secara selektif akan mengaktivasi TRVP1 (nociceptif reseptor) dan mendesensititasinya, menimbulkan efek analgesik.

H. Senyawa Turunan Capsaicin Sebagai Agonis Reseptor TRVP1

Capsaisin (*8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide*) merupakan produk natural yaitu komponen aktif dalam tanaman cabai dari genus *Capsicum* (Ghawat *et al*, 2015: 333). Tanaman dari genus *Capsicum*, keluarga *Solanaceae* termasuk tanaman cabai merupakan sumber utama rasa pedas karena mengandung gugus pembawa rasa pedas yang disebut capsainoid. Capsaicin mengandung gugus *vanillyl* (yang disebut sebagai kepala), kelompok amida (leher) dan rantai asam lemak (ekor) (Fan & Zheng, 2016: 2).



Gambar 6. Struktur molekul capsaicin (A) bagian kepala (B) bagian leher (C) bagian ekor (Huang *et al*, 2013: 2664).

Capsaicin memiliki afinitas, sensitivitas dan selektifitas pada reseptor TRPV1 dan tidak mengaktifkan homolog reseptor TRPV2-TRPV6. Hal ini dipengaruhi struktur capsaicin dengan gugus *vanillyl* sebagai bagian kepala dan gugus amida sebagai bagian leher yang memberikan spesifitas terhadap *vanilloid pocket* pada reseptor TRPV1 (Fattori *et al*, 2016: 33).

Capsaicin merupakan agen analgesik yang sangat potensial, bekerja dengan mendesensititasi reseptor TRVP1 pada sistem saraf sehingga rangsangan nyeri tidak dapat diteruskan. Penggunaan formulasi topical baik krim, lotion maupun patch setiap hari selama 2 sampai 6 minggu memiliki efek yang bermanfaat untuk mengatasi berbagai variasi gejala nyeri, termasuk neuralgia pasca herpes, diabetik neuropati dan nyeri otot kronik. Formulasi Capsaicin patch 8% banyak digunakan untuk mengatasi neuralgia pasca herpes, neuropati HIV dan beberapa kondisi lain dengan gejala neuropati. Penggunaan capsaisin 8% secara topical cepat terserap ke dalam kulit dan mampu mengurangi efek sistemik yang tidak diinginkan. Penggunaan 8% capsaicin secara topical selama 12 minggu pada pasien neuralgia pasca herpes terbukti secara signifikan menurunkan nyeri. Sementara pada pasien neuropati pasca trauma penggunaan 8% Capsaicin patch menurunkan 80% area *allodyna* setelah 18 bulan pemakaian (Fattory *et al*, 2016: 17-18).

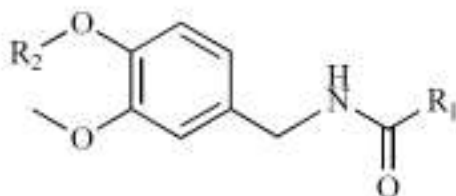
Namun, disamping potensinya yang besar sebagai agen analgesik topical, penggunaan capsaicin secara topical ini memiliki efek samping yang terjadi yaitu sensasi terbakar (*burning*) baik pada penggunaan dosis rendah ataupun dosis tinggi serta dapat menyebabkan terjadinya nyeri eritema sebelum desensititasi terjadi dan bersifat nociceptik (Fattory *et al*, 2016: 7). Penggunaan capsaicin sebagai agen terapi saat ini masih terbatas karena memiliki efek *pungency* yang kuat yang dapat mengiritasi kulit dan membran mukosa lainnya (Ge *et al*, 2011: 76).

Nitrit oksida memainkan peran penting dalam regulasi dan integritas kulit dan mukosa, berfungsi dalam proses fisiologis kutaneus dengan membentuk lapisan pelindung dan lapisan pertahanan antimikroba, mengatur sirkulasi, proses melanogenesis dan eritema akibat paparan UV. Nitrit oksida berperan besar dalam

mengatasi beberapa masalah kulit termasuk proriasis, dermatitis atopik dan dermatitis akibat iritan dan allergen (Friedman & Adler, 2015: 2056-2057). Senyawa-senyawa obat dengan donor nitrit oksida telah banyak dikembangkan. Senyawa tersebut dirancang untuk memberikan pelepasan nitrit oksida yang menghasilkan berbagai efek biologis bergantung NO termasuk perlindungan terhadap lapisan kulit dan mukosa (Bryan, 2015: 2059). Nitrit oksida juga memiliki aktivitas antinociceptif pada saraf supraspinal, spinal dan saraf perifer (Galdino *et al*, 2014: 6).

Studi terhadap struktur dan aktivitas molekul capsaicin menemukan beberapa senyawa turunan yang memiliki efek lebih baik dibandingkan dengan capsaicin dengan melakukan modifikasi pada beberapa bagian. Pada modifikasi bagian A aktivitas antagonis meningkat dengan penggantian gugus OH pada cincin aromatik dengan gugus nitro. Pada modifikasi bagian B, aktivitas antinociceptik dari senyawa turunan capsaicin meningkat bukan hanya lebih baik dibanding Indometasin tetapi juga prekursornya (*vanillyl decanoate*) dengan pemanjangan rantai alkoksil pada posisi C4. Adapun pada modifikasi bagian C, potensi analgesik dari capsaicin meningkat dengan bertambahnya panjang rantai hidrofobik asam lemak 8-12 atom karbon. Sedangkan senyawa dengan panjang rantai lebih dari itu memiliki aktivitas rendah dan tidak memiliki aktivitas lagi (Huang *et al*, 2013: 2664-2668).

Desain terhadap turunan senyawa capsaicin dengan donor nitrit oksida untuk menurunkan efek *pungency*, mencegah iritasi dan eritema serta sebagai antinociceptik telah dilakukan dengan modifikasi terhadap bagian *vanillyl head* dan bagian ekor. Gugus nitrit oksida sebagai donor ditambahkan pada bagian cincin aromatik *vanillyl head* (Ge *et al* 2011: 76-77).



Gambar 7. Modifikasi terhadap senyawa capsaicin (Ge *et al*, 2011: 77).

Tabel 1. Modifikasi bagian kepala dan ekor dari molekul capsaicin (Ge *et al*, 2011: 77)

Compound	R ₁	R ₂
B ₁		
B ₂		
B ₃		
B ₄		
B ₅		
B ₆		
B ₇		
B ₈		
B ₉		
B ₁₀		

Senyawa yang baru disintesis (turunan capsaicin) pertama kali diuji efek agonis terhadap TRPV1 berdasarkan influks kalsium dalam cairan intraseluler dan

selanjutnya dilakukan pengujian terhadap pelepasan nitrit oksida dengan metode Greiss Assay. kesemua senyawa menunjukkan peeningkatan influks kalsium yang lebih baik dibanding dengan capsaicin dan pelepasan NO (Ge *et al*, 2011: 78).

Tabel 2. Efek agonis dan aktivitas pelepasan nitrit oksida senyawa turunan capsaicin dengan donor NO (Ge *et al*, 2011: 77)

Compound	R340/R380	NO(+/-)
Blank	0,999	-
Capsaicin	1,88	-
Dihidrocapsaicin	1,996	-
B1	1,771	+
B2	1,683	+
B3	1,711	+
B4	1,695	+
B5	1,546	+
B6	1,548	+
B7	1,772	+
B8	1,554	+
B9	2,103	+
B10	1,953	+

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas analgesik dengan metode *mouse'tail immersion* dan diperoleh hasil senyawa B2, B5 dan B8 memiliki aktivitas lebih baik ddibanding capsaicin dan memiliki aktivitas analgesik yang potensial (Ge *et al*, 2011: 78).

Tabel 3. Efek analgesik senyawa turunan capsaicin dengan donor NO (Ge *et al*, 2011: 77)

Compound	Increase of Pain Threshold (%)
Blank	20,19
Ibuprofen	78,66
Capsaicin	258,74
dihidrocapsaicin	94,07
B1	66,05
B2	307,17
B3	157,16
B4	147,93
B5	259,97
B6	162,33
B7	195,90
B8	282,96
B9	58,34
B10	7,47

I. Tinjauan Islam

Dalam kehidupannya manusia akan diuji baik dengan perkara yang tidak disukainya atau bisa pula perkara yang menyenangkan. Sakit merupakan salah satu ujian yang diberikan Allah SWT pada hambanya. Semua orang pasti pernah mengalami sakit, baik itu sakit ringan maupun sakit yang serius. Allah SWT. berfirman dalam Q.S. Al-Anbiyaa/21: 35 (Al-quran dan Terjemahan Kementerian Agama RI. 2013)

كُلُّ نَفْسٍ ذَائِقَةُ الْمَوْتِ وَنَبْلُوكُم بِالشَّرِّ وَالْخَيْرِ فِتْنَةً وَإِلَيْنَا تُرْجَعُونَ

Terjemahnya :

“ Setiap yang bernyawa akan merasakan mati. Kami akan menguji kamu dengan keburukan dan kebaikan sebagai cobaan. Dan kamu akan dikembalikan hanya kepada Kami.”

Sahabat Ibnu ‘Abbas menafsirkan ayat ini : “ Kami akan menguji kalian dengan kesulitan dan kesenangan, kesehatan dan penyakit, kekayaan dan kefakiran, halal dan haram, ketaatan dan kemaksiatan, petunjuk dan kesesatan.” (Tafsir Ibnu Jarir).

Salah satu masalah kesehatan umum dan merupakan keluhan yang banyak terjadi adalah nyeri. Nyeri neuropati merupakan penyakit masih menjadi tantangan dalam bidang pengobatan karena keberagaman etiologi, gejala dan mekanismenya sehingga belum ditemukan obat yang bekerja selektif dan spesifik untuk mengatasi nyeri neuropati ini.

Berobat ketika sakit sendiri merupakan salah satu ikhtiar yang dapat dilakukan seorang mukmin dan hal tersebut tidak bertentangan dengan tawakkal. Sebagaimana halnya tidak bertentangan dengan menolak lapar, dahaga, panas dan dingin dengan

hal-hal yang menjadi kebalikannya. Sebagaimana yang diriwayatkan oleh Muslim dari hadits Abu Zubair, dari Jabir bin Abdillah, dari Nabi Muhammad SAW bahwa beliau bersabda :

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهْلُهُ مَنْ جَهْلَهُ وَعِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ

Artinya :

“ Setiap kali Allah menurunkan penyakit, Allah pasti menurunkan penyembuhnya. Hanya ada orang yang mengetahui dan ada yang tidak mengetahuinya.” (H.R. Abu Dawud dan At-Tirmidzi)

Hadits tersebut memberikan penguatan jiwa kepada orang yang sakit dan kepada dokter yang mengobatinya, juga mengandung anjuran untuk terus mencari, mengembangkan dan menyelidiki obat untuk menyembuhkan suatu penyakit serta terus melakukan penelitian.

Dalam Q.S. Surat Al-Fushshilat/41: 53 Allah SWT berfirman 35 (Al-quran dan Terjemahan Kementerian Agama RI. 2013) :

سَنُرِيهِمْ ءَايَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ ۖ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ ﴿٣٥﴾

Terjemahnya :

“ Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda-tanda (kebesaran) Kami di segenap penjuru dan pada diri mereka sendiri, sehingga jelaslah bagi mereka bahwa Al-Qur'an itu adalah benar. Tidak cukupkah (bagi kamu) bahwa Tuhanmu menjadi saksi atas segala sesuatu ? ”

Menurut ringkasan Tafsir Ibnu Katsir, mungkin saja yang dimaksud dengan firman Allah, ”dan pada diri mereka sendiri” adalah materi, campuran (senyawa) dan karakteristik yang menakjubkan yang membentuk tubuh manusia, sebagaimana dijelaskan di dalam ilmu anatomi yang menunjukkan tentang hikmah Sang Pencipta.

Dalam Q.S. Surat Al-Jatsiyah/45: 13 Allah SWT berfirman (Al-quran dan Terjemahan Kementerian Agama RI. 2013) :

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُۥٓ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ
لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ﴿١٣﴾

Terjemahnya :

“ Dan Dia menundukkan apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi untukmu semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sungguh, dalam hal yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berpikir.”

Ayat-ayat tersebut menunjukkan salah satu tanda kebesaran dan kekuasaan Allah SWT terdapat dalam diri manusia sendiri sebagai makhluk ciptaan yang sempurna dimana Allah SWT menciptakan manusia dengan anatomi dan fisiologis yang sangat rapi dan terstruktur. Pada penelitian ini pun digunakan tinjauan susunan tubuh manusia sampai pada tahap molekuler dengan memanfaatkan kemajuan teknologi komputer.

Adapun proses mengkaji, mempelajari serta meneliti hal tersebut sebagai upaya dalam pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan serta sebagai ikhtiar dalam pengobatan merupakan bagian dalam usaha mempergunakan akal-pikiran yang sangat dianjurkan dalam Islam serta dalam rangka menambah keimanan kepada Allah SWT.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah studi eksperimental kuantitatif, yaitu Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktifitas (HKSA) senyawa turunan Capsaisin sebagai agen anti-nyeri neuropati. Dan menemukan senyawa ligan aktif yang memiliki aktivitas antagonis reseptor TRPV1 berdasarkan fitur farmakofor dan interaksi ligan dan reseptor. Serta menemukan prediksi toksisitas dan farmakokinetik senyawa ligan aktif.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Komputer Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

B. Pendekatan Penelitian

Penelitian ini didasari dengan pendekatan pra eksperimen dengan sistem komputasi, yaitu penelitian eksperimen yang hanya menggunakan kelompok studi tanpa menggunakan kelompok kontrol serta pengambilan responden tidak dilakukan randomisasi, variable-variabel terkait secara otomatis akan ditentukan dengan software program komputer yang telah berkembang saat ini.

C. Sumber Data

Pada penelitian ini digunakan data struktur molekul dan aktivitas antagonis reseptor TRPV1 (EC_{50}) hasil eksperimen secara in vivo dari 10 senyawa turunan

capsaicin dari penelitian Ge *et al*, pada tahun 2011 yang berjudul “*Synthesis and Biological Evaluation of Nitric Oxide-Releasing Derivatives of Capsaicin as Analgesia Drugs*””. Struktur reseptor TRVP1 diunduh dari situs protein Data Bank /PDB RCSB.

D. Instrumen Penelitian

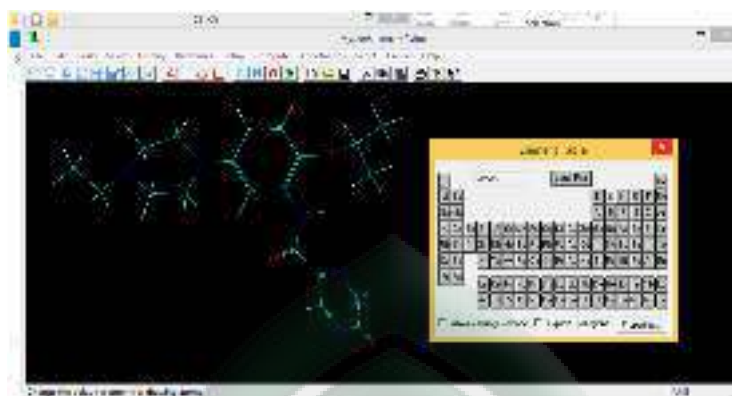
Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu set komputer yang mampu melakukan perhitungan kimia komputasi dengan spesifikasi : Processor Intel® Core™ 2 Duo CPU E7500 @ 2.93 GHz 2.94 GHz, RAM 2,00 GB dan harddisk 700 GB dengan perangkat lunak berupa sistem operasi Windows™ 7 Ultimate, Hyperchem® release 8.0.8, Molecular Operating Environment (MOE) release 2009.10, Zinc dan SPSS 20.0 for Windows serta satu buah komputer jinjing dengan spesifikasi Processor Intel Core i3-60060, CPU @ 2.00 GHz 1.99 GHz, RAM 4,00 GB (3.90 GB usable) dan harddisk 500 GB dengan perangkat lunak berupa system operasi Windows 10 Pro version 1607, Hyperchem®release 8.0.8, Molecular Operating Environment (MOE) release 2009.10, Zinc dan SPSS 20.0 for Windows, dan Toxtree 2.6.0.

E. Prosedur pengolahan dan analisis data

1. Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas

a. Pemodelan struktur molekul

Pemodelan struktur senyawa turunan piperazin dibuat dengan menggunakan program *HyperChem*. Pembuatan model molekul terdiri atas pemilihan atom, jenis ikatan dan muatan total dari molekul uji. Struktur tiga dimensi (3D) setiap senyawa disimpan dalam format ekstensi *.hin.

gambar 8. Jendela *HyperChem*

b. Optimasi ligan

Struktur senyawa dioptimasi dengan perangkat lunak *HyperChem* menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set small. Optimasi struktur geometri bertujuan untuk memperoleh konformasi struktur yang lebih stabil. Urutan perintah pada program *HyperChem* yaitu *Setup>Ab initio*. Selanjutnya, pilih *Compute>Geometry optimization* untuk memulai perhitungan optimasi geometri dengan parameter default. Hasil perhitungan *Ab initio* akan lebih akurat bila dibandingkan dengan metode optimasi metode semiempirik, sebab *Ab initio* menyelesaikan semua persamaan mekanika kuantum secara eksak dan semua elektron yang ada diperhitungkan. File yang telah dioptimasi disimpan dalam format ekstensi *.mol

Gambar 9. Panel optimasi *Ab initio* menggunakan program *HyperChem*

c. Kalkulasi deskriptor

Nilai deskriptor dikalkulasi menggunakan program MOE. Namun sebelum dikalkulasi, dioptimasi lagi menggunakan program MOE. Optimasi dimulai dengan pembuatan database senyawa turunan capsaicin, dengan menginput struktur senyawa yang telah dioptimasi di Hyperchem ke file database. Urutan perintah optimasi di MOE yaitu klik ganda struktur yang akan dioptimasi pada kolom database Viewer, pilih Energy minimize pada Jendela MOE, atur nilai Gradient menjadi 0.001. Selanjutnya kembali ke jendela database. Klik satu kali struktur yang baru diubah nilai energy minimize-nya kemudian pilih Compute>Molecule>energy minimize atur kembali nilai RMS Gradient menjadi 0.001. Lakukan pada 43 stuktur senyawa turunan capsaicin Setelah semua struktur dioptimasi, baru mulai menghitung nilai deskriptor.



Gambar 10. Jendela *energy minimize*

Deskriptor yang dihitung adalah AM1_Dipole, AM1_E, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_LUMO, ASA_H, ASA_P, glob, log P (o/w), log S, mr, vdw_vol, vol, dan VSA. Urutan perintah untuk kalkulasi descriptor adalah *Compute>Descriptor>calculate*, kemudian pilih deskriptor yang akan dihitung, lalu tekan OK.

Table 4. Daftar deskriptor

No.	Simbol pada software	Simbol umum	Deskriptor
1.	AM1_dipole	μ	Momen dipol
2.	AM1_E	E_{Tot}	Energi total
3.	AM1_Eele	E_{Ele}	Energi elektronik
4.	AM1_HF	HF	Panas pembentukan
5.	AM1_HOMO	E_{HOMO}	Energi HOMO
6.	AM1_LUMO	E_{LUMO}	Energi LUMO
7.	ASA_H	A	Luas permukaan hidrofobik
8.	ASA_P	\AA	Luas permukaan polar
9.	Glob	Glob	Glubolaritas
10.	log P (o/w)	log P	Koefisien partisi
11.	log S	log S	Logaritma kelarutan dalam air
12.	Mr	MR	Refraktivitas molar
13.	vdw_vol	V_w	Volume Van der Walls
14.	Vol	Vol	Volume molekuler
15.	VSA	VSA	Luas permukaan Van der Walls

d. Perhitungan statistik

Variabel tak bebas dalam penelitian ini adalah aktivitas antagonis TRPV1 ($\log IC_{50}$) hasil eksperimen, sedangkan variable bebas yang digunakan adalah berupa: AM1_Dipole, AM1_E, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_LUMO, ASA_H, ASA_P, glob, $\log P$ (o/w), $\log S$, mr, vdw_vol, vol, dan VSA. Semua variable dianalisis menggunakan regresi multilinier metode *backward* untuk mengetahui urutan variable bebas mana yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa. Nilai F yang digunakan yaitu *F Value* dengan *entry* 999,9 dan *Removal* 99,9. Hasil yang diperoleh berupa persamaan HKSA beserta nilai parameter statistik seperti nilai r , r^2 , dan F. nilai F menunjukkan kemaknaan hubungan bila dibandingkan dengan F table. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan yang dinyatakan oleh persamaan yang didapat, adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Untuk mendapatkan model dengan nilai r tertinggi, dilakukan eliminasi senyawa yang memiliki deviasi terbesar berdasarkan nilai Z pada hasil komputasi MOE, dimana struktur senyawa dengan nilai $Z > 2$ dieliminasi dari nilai statistik. Selain parameter statistik tersebut, dari hasil perhitungan juga diperoleh nilai tetapan dan nilai koefisien setiap variabel bebas yang terlibat dalam persamaan yang dihasilkan. Nilai koefisien yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas inhibisi teoritis.

e. Validasi dan penetapan model HKSA

Selanjutnya model-model yang terpilih divalidasi silang dengan metode *Leave One Out cross validation (LOOCV)*, yaitu dengan cara setiap senyawa terprediksi dihilangkan dalam perhitungan analisis regresi linear. Persamaan HKSA

yang terpilih adalah persamaan dengan nilai kriteria statistic terbaik dan memenuhi kriteria validasi yaitu $q^2 \geq 0.5$. Nilai q^2 di hitung menurut persamaan :

$$q^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}$$

y_i = aktivitas eksperimen senyawa ke-i

\hat{y} = aktivitas eksperimen rata-rata

\bar{y}_i = aktivitas prediksi validasi

2. Docking molekul

Teknik *docking* molekul memungkinkan kita untuk mengevaluasi kecocokan obat potensial (ligan) ke situs reseptor. Sifat atom dan gugus fungsi dari struktur obat memungkinkan kita untuk menyelidiki pengikatan ligan ke situs target.

Pendekatan yang digunakan adalah semi *rigid*, dimana protein dibuat *rigid* sedangkan fleksibel. Metode pendekatan ini akan memberikan kemungkinan interaksi dalam berbagai konformasi ligan sehingga memungkinkan untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Jumlah bentuk konformasi yang memungkinkan sesuai dengan banyaknya ikatan *rotatable* yang ada. Tahapan prosedur *docking* terdiri dari tiga langkah, yaitu preparasi ligan, preparasi protein dan simulasi *docking*.

a. Preparasi ligan

Ligan dalam bentuk struktur tiga dimensi dioptimasi dengan metode *Ab initio* menggunakan program *Hyperchem*. Struktur kemudian disimpan dalam format *.mol. File dibuka pada jendela MOE. Struktur diprotonisasi untuk menambahkan hidrogen dan muatan parsial, dengan Protonisasi tiga dimensi. Urutan perintah *MOE* > *Compute* > *Protonate 3D*. File kemudian disimpan dalam database*.mdb.



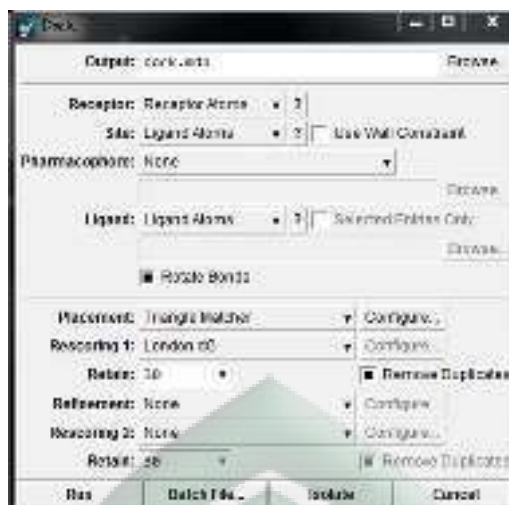
Gambar 12. Panel *Protonate 3D*

b. Preparasi protein

Reseptor diunduh dari situs RSCB.PDB dalam format *.pdb/*.ent. Molekul air kemudian dihapus dari struktur. Protein kemudian diprotonisasi dengan langkah yang sama pada preparasi ligan. Untuk memastikan telah dilakukan protonisasi, dilakukan pengecekan hingga dipastikan tiap atom pada molekul memiliki muatan.

c. Simulasi Docking

Ligan dan reseptor yang telah diprotonisasi dibuka dalam jendela MOE. Panel simulasi docking dibuka dengan urutan perintah *MOE > Compute > Simulations > Dock. Receptor* pada panel *Dock* diatur *Receptor + Solvent, Site* diatur *Ligand atoms*. *Ligand* diatur *MDB File* (atau *Selected atoms* jika ligan terbuka pada jendela MOE dan *di-select*). *Placement* diatur *Proxy triange*, *rescoring 1* menggunakan *Alpha HB* dan *refinement* diatur *Forcefield* dan *rescoring 2* menggunakan *Alpha HB*. Posisi *docking* terbaik dipilih berdasarkan nilai *rmsd* (≤ 2) dan nilai *scoring* terendah.

Gambar 13. Panel *Dock*

3. Penelusuran Farmakofor dan Virtual Skrining

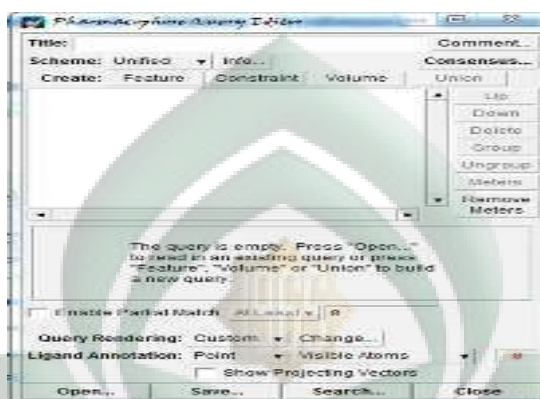
a. Menyejajarkan Struktur Protein-Ligan

Protein-protein diunduh dari situs RCSB.PDB. Seluruh struktur ligan dan protein kemudian dibuka pada Jendela MOE dan disejajarkan sehingga rantai memiliki struktur yang sama yang akan bergerak bersama-sama sebagai satu unit. Dengan cara ini kompleks protein-ligan dapat disejajarkan. File kemudian disimpan sebagai database.

b. Penentuan Fitur Farmakofor

Pencarian farmakofor secara hipotetik digambarkan sebagai *pharmacophore query*, yaitu seperangkat fitur *query* yang biasanya dibuat dari titik anotasi ligan. Titikanotasi adalah penanda dalam ruang yang menunjukkan lokasi dan jenis atom atau gugus yang penting, seperti donor dan akseptor hidrogen, pusat aromatik, posisiproyeksi interaksi yang mungkin, muatan gugus, dan bio-isosterik. Poin-poin anotasi pada ligan adalah lokasi fitur yang potensial yang akan menjadi *query pharmacophore*. Fitur farmakofor ditentukan melalui empat tahapan yaitu

membuat database konformasi, membuat *Query Pharmacophore*, mencari fitur farmakofor berdasarkan *Query Pharmacophore* pada database konformasi, kemudian memperbaiki *Query*.



Gambar 14. Panel *Pharmacopore Query Editor*

Query Pharmacopore dibuat dengan menggunakan senyawa obat yang dianggap mampu terikat dengan protein 4MBS hingga dijadikan sebagai penuntun. Setelah senyawa penuntun terbuka pada jendela MOE, *Pharmacopore Query editor* dibuka dengan perintah *MOE> File> New> Pharmacopore Query*. Skema anotasi farmakofor otomatis membuat *query pharmacopore*, sehingga pada jendela MOE akan terlihat fitur-fitur farmakofor yang terdapat pada senyawa penuntun. Skema anotasi yang digunakan adalah *unified*. Titik anotasi yang sesuai dengan hasil penelitian interaksi ligan reseptor dan SAR dipilih untuk menjadi fitur farmakofor.

Langkah ketiga adalah menjalankan *pharmacophore search*. Tujuannya adalah untuk menguji *query pharmacophore* apakah cocok dengan fitur-fitur farmakofor dari keseluruhan senyawa atau sebagian senyawa yang terbaik, sehingga dapat ditentukan fitur berperan penting pada aktivitas senyawa. Perbaikan

query dimaksudkan untuk memodifikasi *query* atau menghasilkan kecocokan dengan pengaturan *query* yang lebih ketat.

Untuk molekul yang mirip dapat diselaraskan dan dibuat konsensus sehingga memudahkan untuk memilih fitur farmakofor. Konsensus farmakofor menyediakan fitur yang disarankan yang terdapat pada molekul-molekul yang selaras. Penyelarasan (*alignment*) senyawa-senyawa dalam database konformasi dengan menggunakan *MOE's Flexible Alignment*, dengan urutan perintah *MOE> Compute> Simulations> Flexible Alignment*.

Langkah keempat adalah virtual skrining, dengan mendownload terlebih dahulu beberapa ribu senyawa bioaktif tanaman-tanaman Indonesia. Senyawa-senyawa yang telah didownload kemudian disimpan sebagai database, untuk melakukan langkah virtual skrining ikuti beberapa perintah *MOE> Compute> Pharmacophore> Search*. Senyawa *hits* kemudian di-docking dengan menggunakan metode *pharmacophore*, metode *docking* ini sedikit berbeda dengan metode *docking* yang dilakukan pada senyawa yang digunakan pada perhitungan HKSA, pada *docking* senyawa menggunakan metode farmakofor pada panel *dock* bagian *pharmacophore* dipilih Ph4 File kemudian dipilih fitur farmakofor yang digunakan dan pada bagian *Placement* dipilih *Pharmacophore*.

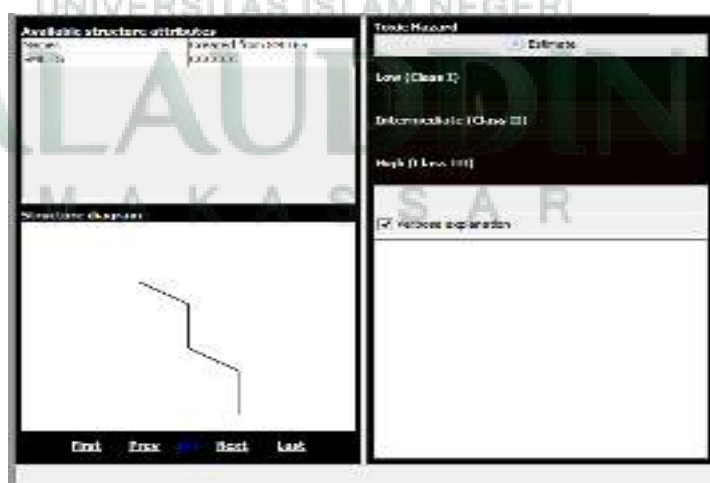
Tujuan virtual skrining adalah untuk memperoleh senyawa-senyawa yang hits antara senyawa-senyawa bioaktif dari tanaman-tanaman endemik Indonesia dengan fitur farmakofor yang diperoleh. Virtual skrining dapat juga dilakukan pada beberapa aplikasi kimia komputasi lainnya, seperti *Autodoc Vina*.

4. Studi bioavailabilitas

Senyawa yang memiliki kelarutan dan permeabilitas yang buruk dapat diprediksi menggunakan *rule of 5* lipinski. Pada *rule of 5* lipinski menyatakan bahwa absorpsi dan permeasi yang kurang baik ketika suatu senyawa memiliki lebih dari lima donor ikatan hidrogen (ditunjukkan dengan jumlah OH dan NH), berat molekul lebih dari 500, Log P lebih dari 5 (atau MLogP lebih dari 4.15), terdapat lebih dari 10 akseptor ikatan H (ditunjukkan oleh jumlah N dan O).

5. Studi Toksisitas

Prediksi ini dilakukan dengan menginput file struktur dalam bentuk *.mol. Selanjutnya memilih metode penentuan kriteria toksisitas pada senyawa. *Klik method >> select a decision tree >> select available decision tree >> ok >> estimate >> save *.pdf*. Estimasi dilakukan untuk melihat penentuan kriteria toksisitas suatu senyawa berdasarkan toxtree. Sebelum melakukan estimasi maka dipilih *verbose explanation* untuk menentukan tingkatan dan detail dari hasil yang didapatkan.



Gambar 15. Jendela Toxtree

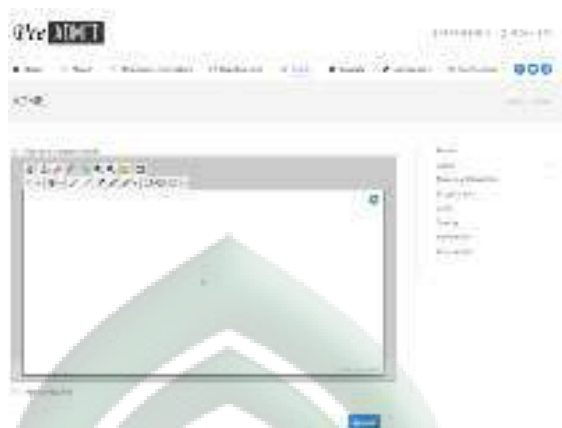
Selain Toxtree, digunakan juga admetSAR untuk mengetahui nilai toksisitas pada ikan, tikus, dan *Tetrahymena Pyriformis*. Caranya dengan memilih *Predict* dari jendela *Home* >> masukkan format smiles senyawa pada kotak *Input SMILES Here* >> *Predict*.



Gambar 16. Jendela AdmetSAR

6. Studi Farmakokinetik

Prediksi ini dilakukan dengan bantuan dari situs preadmet.bmdrc.org yang merupakan aplikasi berbasis web untuk memprediksi data ADME dan membangun sifat sifat *drug-like* menggunakan metode in siliko. Klik *load* >> masukkan data dari file mol yang dibuka menggunakan fasilitas perangkat lunak pengolah data (Microsoft Office Word atau WordPad) >> *Load* >> *Submit*



Gambar 17. Jendela PreADMET

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (HKSA)

Tabel 5. Hasil regresi multilinier metode backward

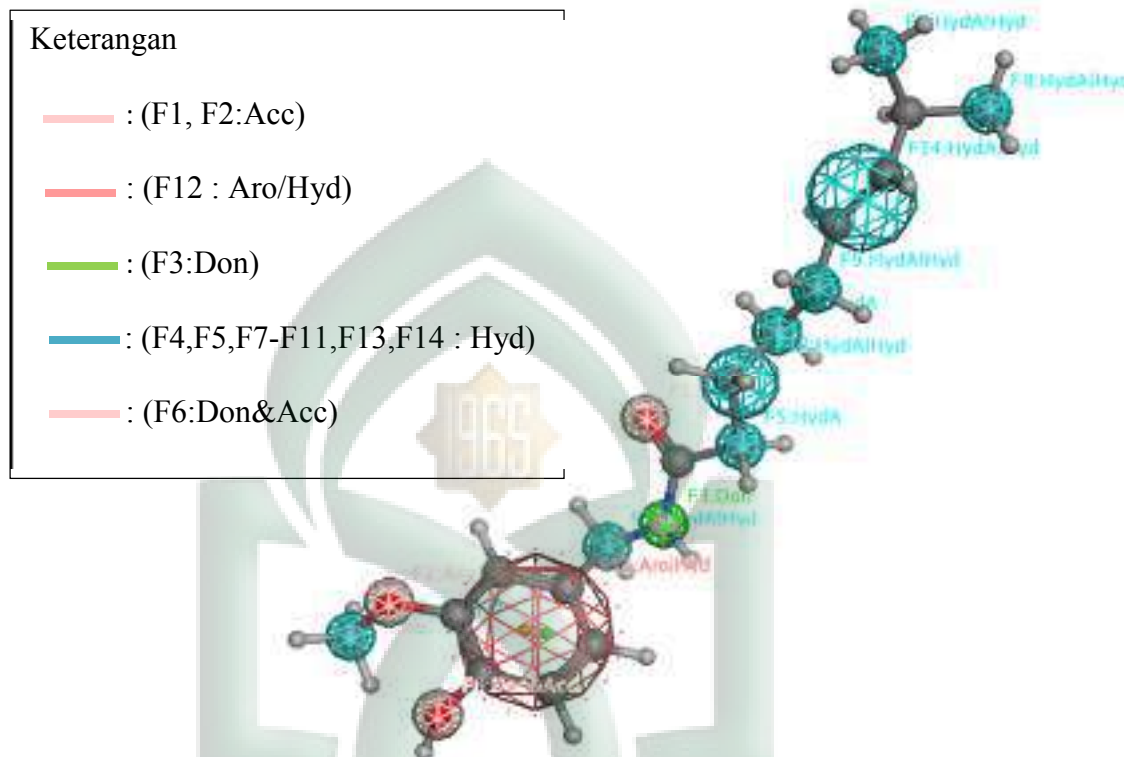
Model summary				
Mode	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	0.970	0.941	0.350	71.74023
2	0.970	0.941	0.674	50.79949
3	0.968	0.936	0.766	42.99382
4	0.940	0.884	0.681	50.23080
5	0.919	0.845	0.659	51.96377
6	0.897	0.805	0.643	53.145226
7	0.875	0.765	0.630	54.08398
8	0.862	0.744	0.647	52.81517
9	0.828	0.685	0.616	55.15505
10	0.795	0.632	0.595	56.57442

- a. Predictors: (Constant), P, N, C, J, A, H, G, I, D, B
- b. Predictors: (Constant), P, N, C, J, A, G, I, D, B
- c. Predictors: (Constant), P, N, C, J, A, G, I, D
- d. Predictors: (Constant), P, N, C, J, A, G, I
- e. Predictors: (Constant), N, C, J, A, G, I
- f. Predictors: (Constant), N, C, J, G, I
- g. Predictors: (Constant), N, J, G, I
- h. Predictors: (Constant), N, G, I
- i. Predictors: (Constant), N, I
- j. Predictors: (Constant), N

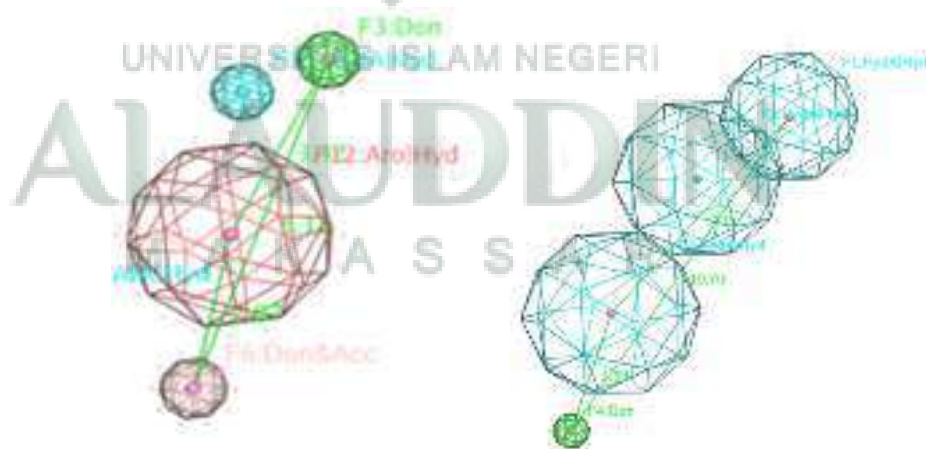
Tabel 6. Kombinasi deskriptor dengan nilai kriteria statistik dan validasi *Leave One Out* (q2)

No.	Jumlah deskriptor	Deskriptor	r	r2	Standard Error of Estimate	F	Sig.	q2
1	4	BDIN	0,965	0,931	29,33581	23,535	0,000	0,779454
2	4	BDGI	0,963	0,928	29,91658	22,563	0,000	0,7952653
3	4	CDIN	0,959	0,919	31,65844	19,961	0,001	0,715471
4	4	BCDI	0,958	0,917	32,12757	19,331	0,001	0,734408
5	4	BGIP	0,957	0,916	32,32285	19,077	0,001	0,785886
6	4	DINP	0,955	0,912	33,00047	18,231	0,001	0,668565
7	4	ACDI	0,954	0,911	33,33639	17,830	0,001	0,748396
8	4	CDIP	0,954	0,910	33,39673	17,759	0,001	0,743364
9	4	CDIJ	0,954	0,910	33,40885	17,745	0,001	0,679312
10	4	CDHI	0,954	0,910	33,42090	17,731	0,001	0,726417
11	4	DHIN	0,954	0,908	33,56702	17,562	0,001	0,650006
12	4	ADIN	0,949	0,900	35,28807	17,724	0,001	0,679937
13	4	BDHN	0,948	0,899	35,37986	15,634	0,001	0,695105
14	4	DHJN	0,948	0,899	35,49052	15,525	0,001	0,589809
15	4	BDHI	0,947	0,898	35,68578	15,337	0,001	0,671192
16	4	DGIP	0,947	0,896	35,94420	15,092	0,001	0,238798
17	4	DHNP	0,947	0,896	35,90917	15,125	0,001	0,647253
18	4	DGHN	0,947	0,897	35,74213	15,283	0,001	0,689683
19	4	BDJN	0,947	0,897	35,72858	15,296	0,001	0,695718
20	4	ADHN	0,947	0,896	35,89221	15,141	0,001	0,68236

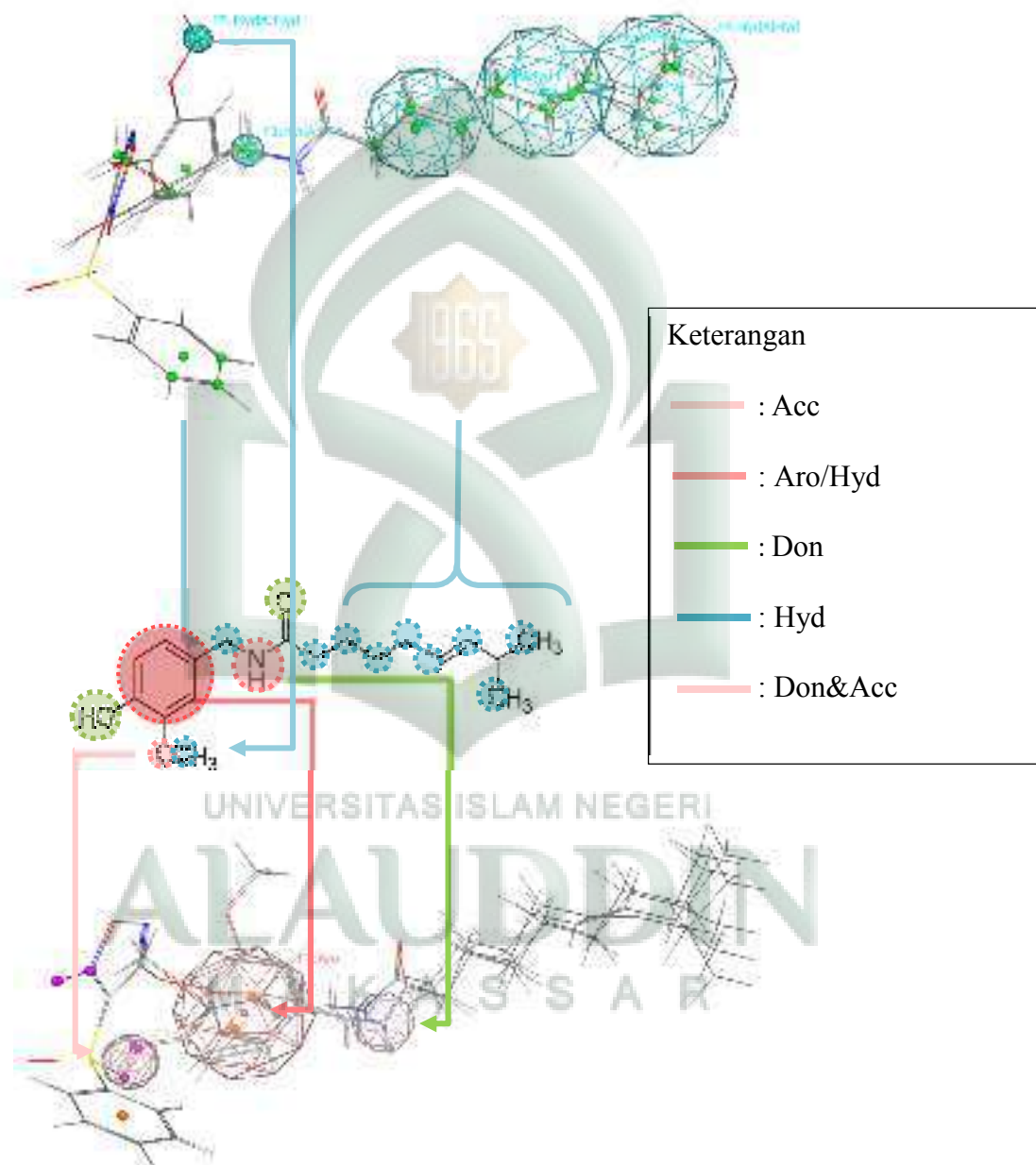
2. Penelusuran Farmakofor



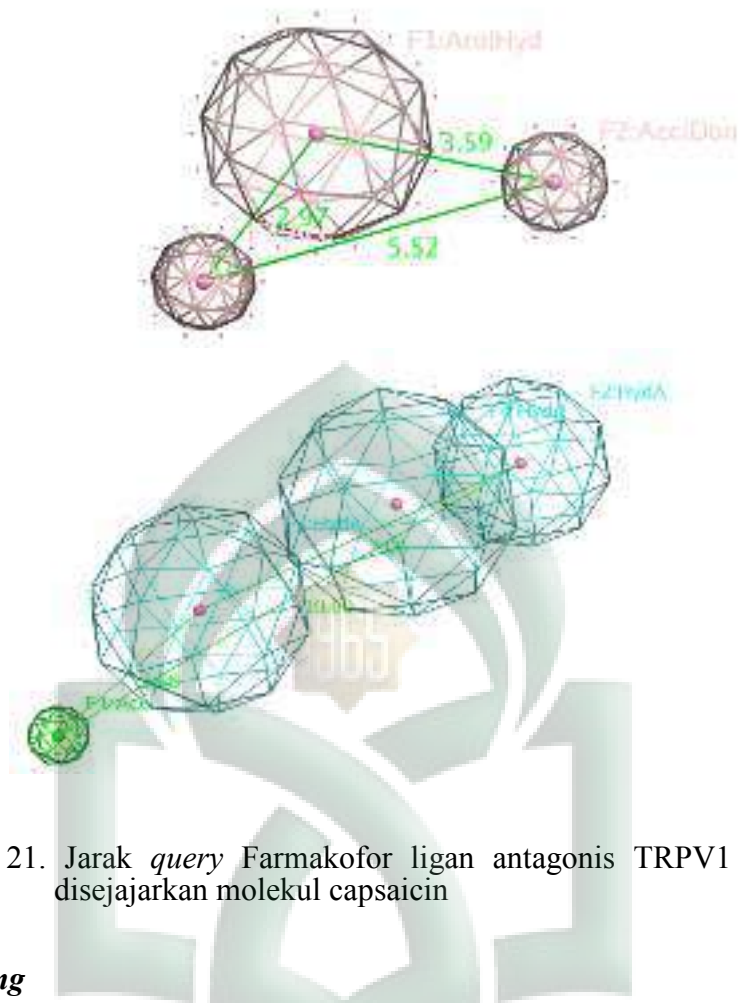
Gambar 18. *Query* Farmakofor antagonis TRPV1 senyawa capsaicin melalui proses *searching pharmacophore* menggunakan program MOE



Gambar 19. Jarak *query* farmakofor antagonis TRPV1 senyawa capsaicin melalui proses *searching pharmacophore* menggunakan program MOE



Gambar 20. *Query* farmakofoor ligan antagonis TRPV1 yang telah disejajarkan dengan senyawa capsaicin

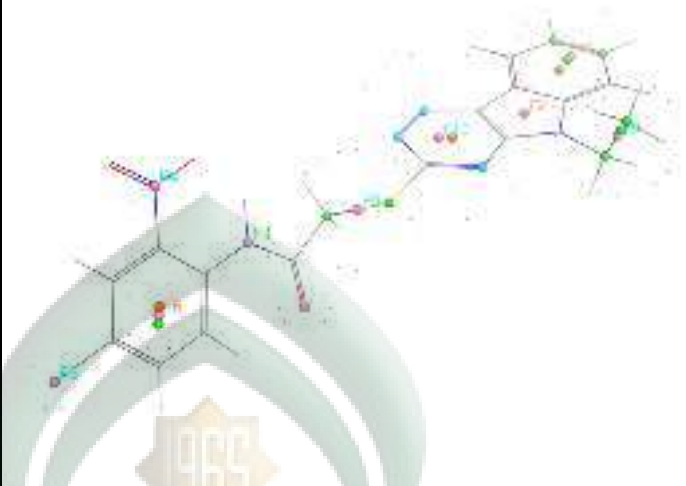
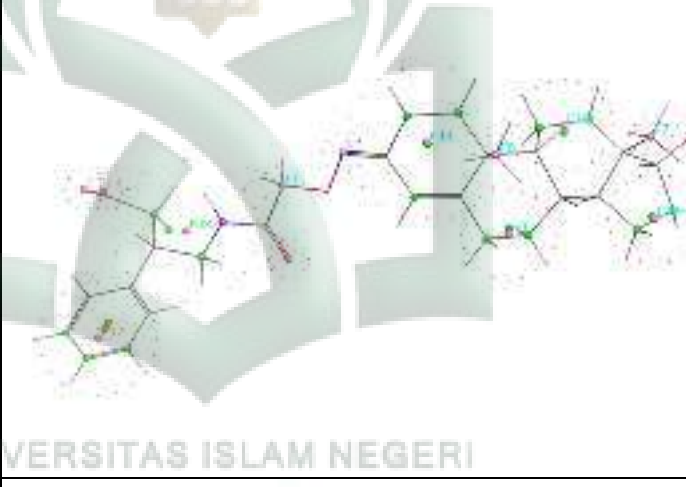
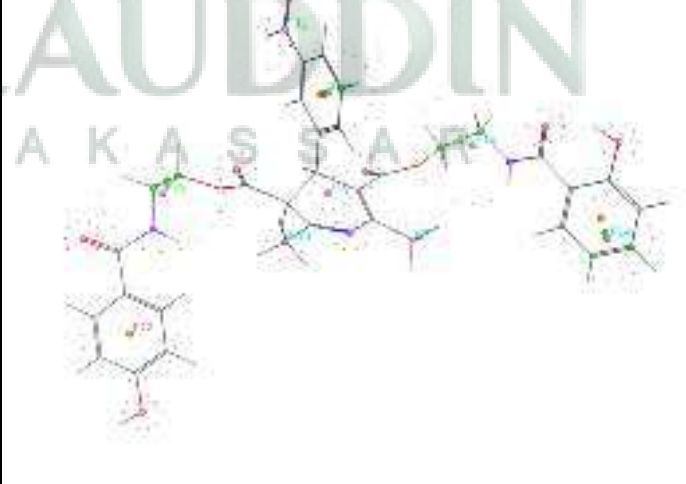


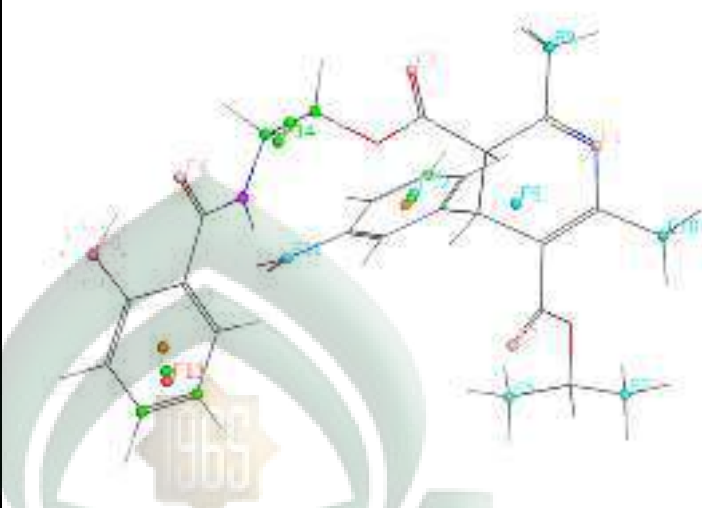

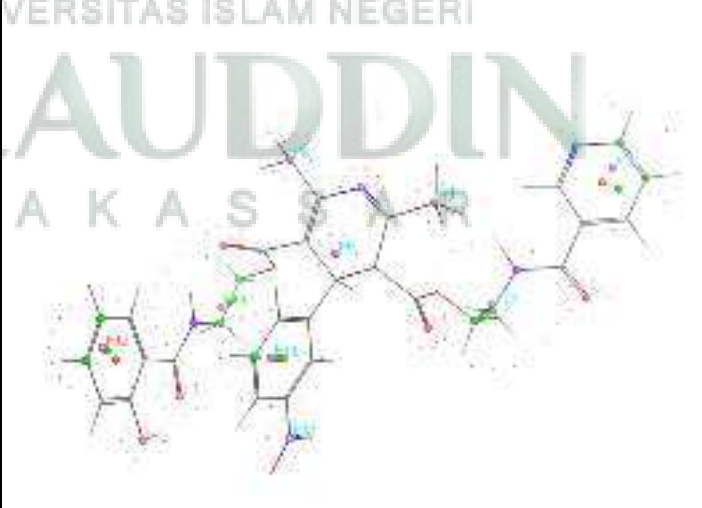
Gambar 21. Jarak *query* Farmakofor ligan antagonis TRPV1 yang telah disejajarkan molekul capsaicin


3. Virtual Screening

Tabel 7. Database 11 senyawa hits hasil *virtual screening*

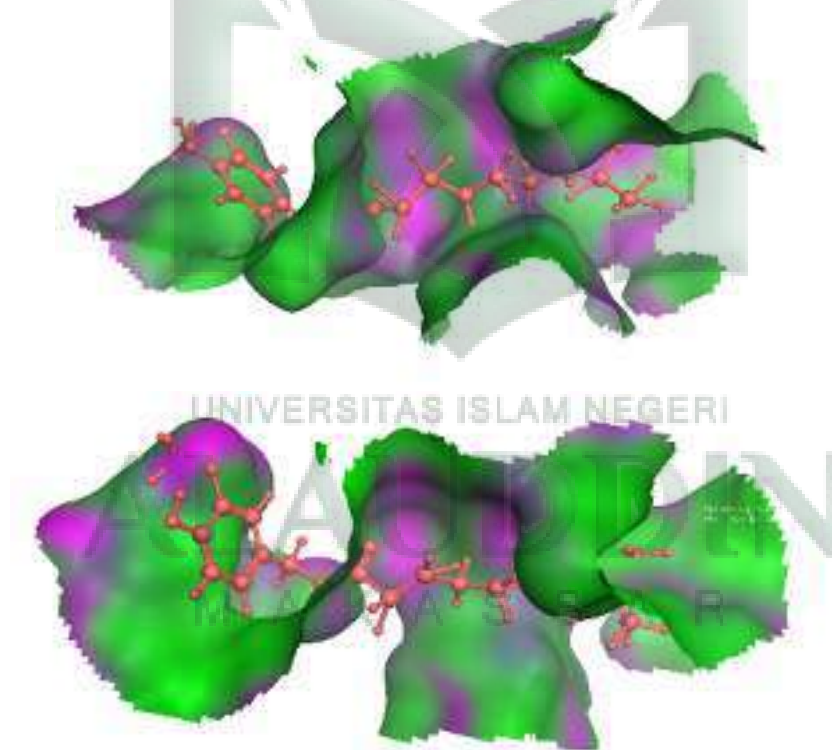
No.	Molekul	Farmakofor yang Hits
1	ZINC02071889	

2	ZINC08441387	
3	ZINC12296996	
4	ZINC08439508	

5	ZINC084339469	
6	ZINC08439489	
7	ZINC08439491	

8	ZINC08439458	
---	--------------	--

4. Docking Molekul



Gambar 22. *Molecular surface* ligan capsaicin protein 2n27

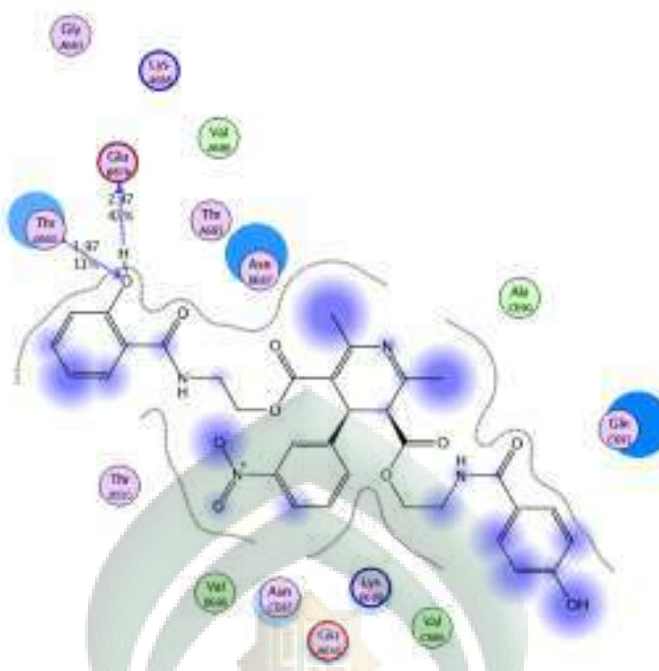
Keterangan:

(1): *Hydrogen Bound* (23%)
 (2): *Hydrogen Bound* (16%)

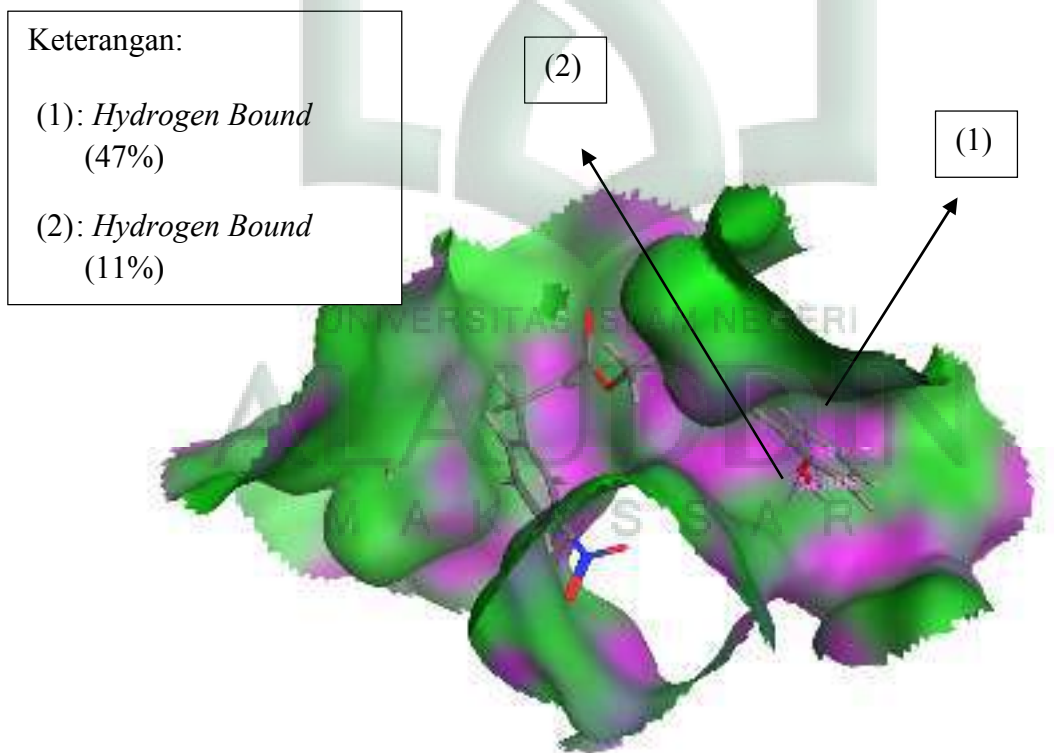
Gambar 24. *Molecul surface* dan interaksi ligan capsaicin dengan protein 2n27

Tabel 8. Hasil *docking* senyawa hits hasil *virtual screening* pada protein 2n27

Senyawa	Entry	<i>Docking Score</i> (S) (kkal/mol)	Ikatan		Jarak Ikatan (Å)	Residu asam amino yang terikat
			Jenis	Σ		
Capsaicin	-	-	Hidrogen	2	2,29	Glu B570
					1.01	Thr B550
ZINC08439508	202	-108.60313	Hidrogen	2	2,47	Glu B570
					1.97	Thr B550
ZINC08439489	279	-134.25847	Hidrogen	2	2.0	Glu B570
					4.21	Thr B550
ZINC02071889	04	-94.281425	Hidrogen	2	1.44	Glu B570
					2.24	Thr B550
ZINC08439458	53	-119.34724	Hidrogen	1	2.9	Glu B570
ZINC08441387	106	-64.8297	Hidrogen	2	2.15	Gln C691
					1.07	Ala C690
ZINC12296996	171	-94.5412	Hidrogen	1	1.11	Asn A687
ZINC08439491	30	-108.56178	Hidrogen	1	2.2	Glu C692
ZINC08439469	249	-109.2893	Hidrogen	1	2.3	Asn A687



Gambar 25. Interaksi senyawa ZINC08439508 dengan protein 2n27



Gambar 26. *Molecular surface* ZINC08439508 pada protein 2n27

Keterangan:

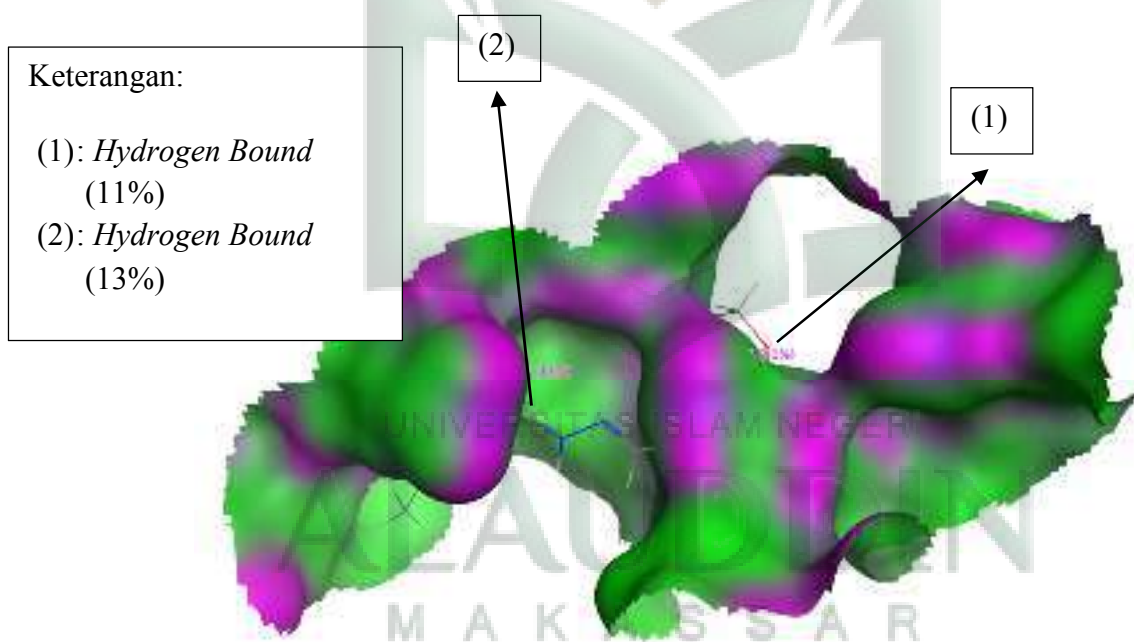
(1): *Hydrogen Bound (24%)*

(2): *Hydrogen Bound (20%)*

Gambar 28. *Molecular surface* dan interaksi ZINC08439489



Gambar 29. Interaksi senyawa ZINC02071889 dengan protein 2n27



Gambar 30. Interaksi senyawa ZINC02071889 dengan protein 2n27

5. Hasil Studi Bioavailabilitas

Tabel 9. Aturan Lipinski dari 3 senyawa hasil docking dengan interaksi yang baik

Senyawa	LogP	Donor Hidrogen	BM	Akseptor Hidrogen	Aturan Lipinski
ZINC08439508	3,401	4	494,637	5	0
ZINC08439489	3,090	3	429,626	5	0
ZINC02071889	4,731	5	656,396	7	2

Keterangan:

Aturan lipinski:

0 = Tidak ada masalah terdeteksi

1-4 = Kemungkinan memiliki absorpsi dan permeasi yang buruk

6. Hasil Prediksi Toksisitas

Tabel 10. Hasil prediksi toksisitas dengan program Toxtree dan admetSAR

Senyawa Utama	Rat Acute Toxicity (mol/kg)	Fish Toxicity (mg/L)	Tetrahymena Pyriformis (Toxicity ug/L)	Carcino mouse/ Carcino rat	Skin irritation/ Skin corrosion	CYPs ***
ZINC02071889	2.5333	0.9780	1.1453	+	Not Corrosive to skin	1,2,3, 4
ZINC08439508	2.6549	1.1555	0.7211	-	Not Corrosive to skin	1,2,3, 4
ZINC08439489	2.0737	1.0800	0.7386	-	No irritating or Corrosive to skin	1,2,3, 4

7. Hasil Prediksi Farmakokinetik

Tabel 11. Hasil prediksi farmakokinetik menggunakan PreADMET

No	Senyawa	BBB (<i>Blood Brain Barriers</i>) Penetration*	HIA (<i>Human Intestinal Absorption</i>) (%)**	Plasma Protein Binding (%)***	Skin Permeability	Caco-2 cell permeability (nm/sec)****	MDCK permeability
1	ZINC02071889	0.286578	98.426187	96.535011	-1.9663	16.3302	0.022237
2	ZINC08439508	0.0152379	78.408893	72.650673	-2.7093	19.581	0.0436895
3	ZINC08439489	0.038388	82.120778	81.202349	-3.04049	19.8733	0.0444071

8. * *Blood Brain Barriers*, lebih dari 2.0 *high absorption to CNS*, 2.0 ~ 0.1 *middle absorption to CNS*, kurang dari 0.1 *low absorption to CNS*
9. ** *Human Intestinal Absorption*, 0-20% *poorly absorbed compounds*, 20 ~ 70% *moderately absorbed compounds*, 70 ~ 100% *well absorbed compounds*
10. *** *Plasma Protein Binding*, lebih dari 90% *chemicals strongly bound*, kurang dari 90% *chemicals weakly bounds*
11. **** *Caco-2 cell permeability*, kurang dari 4 *low permeability*, 4 ~ 70 *middle permeability*, lebih dari 70 *high permeability*

B. Hasil Penelitian

1. Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (HKSA)

Hubungan kuantitatif struktur kimia dan aktivitas biologis obat (HKSA) merupakan bagian penting rancangan obat, dalam usaha mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping yang sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar. Selain itu dengan menggunakan model HKSA, akan lebih banyak menghemat biaya atau lebih ekonomis, karena untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang dikehendaki, faktor coba-coba ditekan sekecil mungkin sehingga jalur sintesis menjadi lebih pendek (Verma dkk, 2010: 95-115).

Deskriptor pada program MOE digunakan untuk mengembangkan model HKSA untuk prediksi aktivitas senyawa turunan capsaicin sebagai antagonis reseptor TRPV1. Deskriptor pada MOE mampu menghitung koefisien korelasi antara senyawa yang diamati dan nilai sifat prediksinya. Kajian HKSA ini menggunakan 12 senyawa. Pemilihan senyawa-senyawa ini didasarkan pada modifikasi beberapa kerangka struktur dari senyawa tersebut. Nilai aktivitas terhadap inhibisi reseptor TRPV1 diperoleh dari hasil penelitian Ge *et al* (2011).

Adapun deskriptor terpilih yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah AM1_dipole, AM1_Eele, AM1_E, PC+, PC-, AM1_LUMO, ASA, ASA_H, kier3, ASA-, logP(o/w), AM1_HF, vdw_vol, vdw_area dan vsa_hyd. Pemilihan deskriptor ini didasarkan pada sifat fisik-kimia yang berperan penting dalam aktivitas reseptor TRPV1 menurut berbagai literature diantaranya yaitu hasil penelitian dari Yang *et al* (2015) dengan judul penelitian “ *Structural Mechanism Underlying Capsaicin Binding and Activation of The TRPV1 Ion Channel* ”, hasil penelitian dari

Bhadoriya *et al* (2012) dengan judul penelitian “ *Three-dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship (3D-QSAR) Analysis and Molecular Docking-Based Combined In Silico Rational Approach to Design Potent and Novel TRPV1 Antagonists* “ dan hasil penelitian dari Kristam *et al* (2013) dengan judul penelitian “ *3D-QSAR 3 Analysis of TRPV1 Inhibitors Reveals a Pharmacophore Applicable to Diverse Scffolds and Clinical Candidates* “ .

Hasil perhitungan deskriptor (Lamp. II) kemudian dianalisis secara statistik menggunakan analisis regresi multilinear dengan bantuan perangkat lunak SPSS 16. Deskriptor-deskriptor tersebut diregresikan terhadap nilai persentasi peningkatan ambang nyeri (*Increase of Pain Threshold (%)*) pada reseptor TRPV1 sebagai variabel terikat dan deskriptor sebagai variabel bebas. Terdapat dua metode yang digunakan untuk melakukan analisis regresi multilinear pada SPSS, metode Backward digunakan untuk menentukan jumlah deskriptor yang akan digunakan sebagai kombinasi dalam persamaan ditunjukkan tabel 5, setelah jumlah deskriptor diperoleh, analisis regresi 227 multilinear dengan metode *Enter* dilakukan untuk memperoleh 10 model persamaan terpilih berdasarkan pada nilai r dan R^2 .

Pada penelitian ini diperoleh bahwa jumlah kombinasi deskriptor yang paling minimal dapat digunakan yaitu 5 ($r = 0.897$ dan $R^2 = 0.805$), semakin sedikit jumlah deskriptor yang digunakan dalam kombinasi maka parameter yang digunakan dalam desain obat semakin sedikit sehingga mempermudah peneliti dalam meningkatkan aktivitas dengan mengganti substituren berdasarkan deskriptor yang terpilih. Nilai q^2 digunakan untuk menentukan model persamaan terbaik. Model persamaan harus memenuhi kriteria nilai $q^2 \geq 0,5$. Sepuluh model persamaan terpilih beserta nilai q^2 ditunjukkan pada tabel 6.

Pada kajian HKSA analisis regresi multilinier menghubungkan variabel bebas (berupa parameter yang dipilih) dengan suatu variabel tidak bebas (aktivitas biologi). Rozaq (2008) menyatakan bahwa untuk pemilihan deskriptor yang penting agar dihasilkan efek terhadap aktivitas biologis dalam mempelajari HKSA biasanya digunakan analisis regresi multilinier. Analisis regresi multiliner digunakan untuk mendapatkan persamaan matematis HKSA dan aktivitas biologi prediksi. Parameter statistik yang dapat digunakan sebagai faktor uji adalah berupa nilai R, R², F, dan SE (Standar Error).

Koefisien korelasi, yang dinyatakan dengan r, merupakan ukuran kekuatan hubungan antara variabel tergantung (aktivitas antagonis TRPV1) dengan variabel bebas (deskriptor). Nilai R berjarak dari -1 hingga +1. Nilai -1 menandakan bahwa hubungan variabel bebas dan variabel tergantung negatif sempurna, sedangkan nilai +1 menyatakan hubungan positif sempurna. Jadi, jika R mendekati ± 1 , maka hubungan linier antara variabel bebas dan variabel tergantung semakin kuat. Jika R = 0, slope akan sama dengan nol, dan variabel bebas tidak dapat digunakan untuk memprediksi variabel tergantung. Nilai F (Fisher) menunjukkan kemaknaan hubungan. Makin besar nilai F, makin besar derajat kemaknaan hubungan. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan, yang dinyatakan oleh persamaan yang didapat, adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Semakin tinggi nilai F semakin kecil kemungkinan hubungan tersebut adalah karena kebetulan. Nilai S (simpangan baku) menunjukkan nilai variasi kesalahan dalam percobaan.

Pengukuran data yang menyebar tersebut digunakan suatu perkiraan *standard error* (SE), *Standard error* (SE) merupakan nilai toleransi yang terjadi pada koefisien

regresi prediksi. Nilai yang semakin kecil pada SE berarti nilai koefisien tidak mudah berubah.


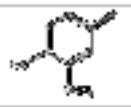
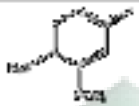
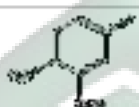

Dari dua puluh persamaan terbaik dengan kombinasi empat deskriptor yang digunakan, persamaan yang dipilih berdasarkan kriteria-kriteria statistik di atas yaitu persamaan pertama pada tabel 6 dengan deskriptor BDIN yang mewakili deskriptor antara lain AM1_Eele, PC+, kier3 dan vdw_vol. Adapun persamaan yang diperoleh yaitu, $\log \text{aktivitas} = 42,086 - 0.00002569 \text{ AM1_Eele} + 7,422 \text{ PC+} + 8,842 \text{ Kier 3} + 0,364 \text{ vdw_vol}$. Regresi multinier terbaik yang berisi empat deskriptor ini menghasilkan korelasi yang baik dengan hasil eksperimen ($R^2 = 0.931$) dan validasi silang q2 (0.779454).

Dari persamaan terbaik yang didapatkan, aktivitas senyawa turunan capsaicin dipengaruhi oleh deskriptor-deskriptor yaitu AM1_Eele, PC+, kier3 dan vdw_vol. Berdasarkan data dari *Chemical Computing Group* MOE.2008.10 (2008) AM1_Eele merupakan deskriptor yang tergolong dalam kategori 3D molekuler deskriptor yang menunjukkan total energi elektronik yang meliputi interaksi elektron dengan elektron, elektron dengan inti dan interaksi inti dengan inti. Adanya penambahan maupun pengurangan substituen yang menurunkan total energi elektronik dalam molekul berperan dalam peningkatan aktivitas senyawa turunan capsaicin. PC+ merupakan deskriptor yang tergolong dalam *jurs descriptor* yang menggabungkan bentuk dan informasi elektronik untuk mengkraterisasi molekul. Muatan partial atom adalah muatan yang terdistribusi dalam molekul. Semakin banyak jumlah atom bermuatan positif dalam molekul akan meningkatkan aktivitas, sehingga diperlukan penambahan atom-atom ataupun gugus dengan muatan positif seperti atom N dan gugus NO. Demikian halnya dengan Kier3 dan vdw_vol. Kier3 (*Kappa shape index*)

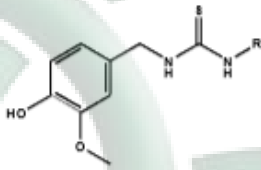
merupakan deskriptor topologi yang menunjukkan panjang jarak interaksi antara atom H dengan atom lain dalam molekul. Molekul dengan nilai jarak interaksi antara atom H dengan atom ataupun gugus lain yang besar memiliki aktivitas yang lebih tinggi. Begitupun dengan adanya peran volume antar permukaan ikatan *van der waals* yakni volume dari permukaan substituen akibat adanya gaya tarik-menarik antar atom non polar yang terdapat pada senyawa akan meningkatkan aktivitas senyawa turunan capsaicin.

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dari Huang *et al* (2013) dengan judul penelitian “ *Capsaicin and Its Analogues : Structure-Activity Relationship Study* “ yang menyatakan bahwa aktivitas antagonis meningkat dengan penggantian gugus OH pada cincin aromatik senyawa capsaicin dengan gugus NO (gambar 31) dan pemanjangan rantai hidrofobik (non-polar) asam lemak 8-12 atom karbon (gambar 32).

Penelitian Kristam *et al* (2013) juga menyatakan bahwa adanya gugus hidrofobik pada ligan memberikan pengaruh yang besar terhadap aktivitas. Senyawa antagonis TRPV1 harus memiliki inti yang cukup hidrofobik dengan substituent hidrofobik dan substituent polar yang memiliki efek sebagai donor ikatan hidrogen (Kristam *et al*, 2013 : 13 & 20)

		
Senyawa	R	IC ₅₀ (nMolar) (±SD)
5-gingerol		0.02 ± 0.01
10-gingerol		0.12 ± 0.05
5		> 100
6		0.07 ± 0.02
7		> 100

Gambar 31. Analisis struktur dan aktivitas senyawa turunan capsaicin region A (Huang *et al*, 2013: 2665)

		
48	H	> 100
49	(CH ₂) ₃ CH ₃	9.48 ± 1.05
50	(CH ₂) ₅ CH ₃	0.18 ± 0.02
51	(CH ₂) ₇ CH ₃	0.06 ± 0.01
52	(CH ₂) ₉ CH ₃	0.11 ± 0.01
53	(CH ₂) ₁₁ CH ₃	0.16 ± 0.03

Gambar 32. Analisis struktur dan aktivitas senyawa turunan capsaicin region C (Huang *et al*, 2013: 2667).

Nilai korelasi (Pearson) berkisar (r) antara 1 sampai -1, nilai semakin mendekati 1 atau -1 berarti hubungan antara dua variabel semakin kuat, sebaliknya nilai mendekati 0 berarti hubungan antara dua variabel semakin lemah, jika koefisien korelasi adalah -1, maka kedua variabel yang diteliti mempunyai hubungan linier sempurna negatif. Jika koefisien korelasi adalah +1, maka kedua variabel yang diteliti mempunyai hubungan linier sempurna positif. Signifikasi bisa ditentukan lewat baris sig. (2-tailed). Nilai 5% atau 0.05 menunjukkan kesalahannya 5% dan signifikansinya/kesempatan untuk benar sebesar 95%. Jika nilai sig. (2-tailed) <0.05 (5%), maka hubungan yang terdapat pada r dianggap signifikan. Signifikansi yang biasa digunakan meliputi 0.01 (99%), 0.05% (05%) dan 0.1 (90%) (Kubinyi, 1993).

Dari hasil korelasi pearson, diperoleh nilai korelasi yang menunjukkan hubungan antara PC+ dengan nilai ambang nyeri (*Increase of Pain Threshold (%)*) AM1_Eele (-0,311**) , Kier3 (0,847**) serta vdw_vol (0,751**). Hal ini menunjukkan hubungan yang cukup baik, searah (ditandai dengan nilainya yang positif) dan signifikan (kebenarannya mendekati 95%-99.9%). Sedangkan untuk AM1_Eele dengan nilai ambang nyeri (*Increase of Pain Threshold (%)*) (-0,311) menunjukkan hubungan yang lemah, tidak searah dan tidak signifikan. Hasil korelasi pearson dapat dilihat pada lampiran III.

B. Penelusuran Farmakofor

Struktur kompleks reseptor-ligan TRPV1 belum banyak diteliti. Terdapat satu struktur yang telah dilaporkan sebagai reseptor TRPV1 dengan ligan capsaicin dengan kode protein 2pnn.

Pola *query* farmakofor dibuat dalam program MOE. Tujuan dari penyusunan *query* farmakofor ini adalah untuk menjelaskan struktur 3D senyawa turunan capsaicin beserta fitur strukturnya untuk berikatan dengan reseptor TRPV1 yang berperan penting terhadap aktivitas biologisnya.



Gambar 33. Model farmakofor capsaicin. Bagian hidrofobik : biru muda (*cyan*), atom positif : biru tua, atom negatif : merah, donor ikatan hidrogen : hijau, akseptor ikatan hidrogen : ungu (*magenta*) (Xuan *et al.* 2015: 3)

Query farmakofor yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor antara senyawa capsaicin dan reseptor TRPV1 berdasarkan hasil *searching* farmakofor yaitu memiliki akseptor proton atom oksigen (F1&F2:Acc), donor dan akseptor proton (F6:don&Acc), gugus aromatik (F12:Aro), atom nitrogen (F3: Don) dan gugus hidrofobik (F4,F5,F7-F11,F13,F14:Hyd).

Jarak antara masing-masing *query* farmakofor pada molekul capsaicin yaitu struktur cincin *vanillyl* bagian kepala dengan gugus amida terhubung dengan jarak 3,42 Å, gugus *vanillyl* dengan substituen bermuatan positif di sekitarnya berjarak 2,75 Å, lalu pada struktur sebelah kiri terdapat gugus hidrofobik rantai asam lemak

dengan panjang jarak 7,35 Å dan terhubung dengan gugus amida pada bagian leher dengan jarak 3,59 Å.

Dengan menggunakan molekul capsaicin sebagai ligan alami dari reseptor TRPV1 dan telah disejajarkan dengan ligan dari penelitian *Ge et al* (2011) didapatkan jarak fitur farmakofor untuk bagian hidrofobik rantai asam lemak 8 atom C yaitu 7,06 Å, jarak rantai asam lemak dengan atom N pada gugus amida panjang 3,68 Å. Inti gugus aromatik cincin *vanillyl* pada bagian kepala dengan atom N gugus amida pada bagian leher berjarak 3,59 Å. Adapun jarak antara inti gugus aromatik cincin *vanillyl* dengan atom pendonor elektron di posisi C3 adalah 2,97 Å. Perbedaan jarak antara *query* farmakofor molekul capsaicin dengan ligan yang telah disejajarkan ini tidak begitu signifikan.

Penelitian Kristam *et al* (2013) yang menyatakan bahwa adanya gugus hidrofobik pada ligan memberikan pengaruh yang besar terhadap aktivitas. Senyawa antagonis TRPV1 harus memiliki inti yang cukup hidrofobik dengan substituen hidrofobik dan substituen polar yang memiliki efek sebagai donor ikatan hidrogen (Kristam *et al*, 2013 : 13 & 20). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana cincin *vanillyl* pada struktur capsaicin merupakan gugus aromatik yang bersifat hidrofobik (Aro/Hyd) dan terdapat substituen elektronik sebagai donor ikatan hidrogen. Muatan elektronik tersebut terletak pada atom N gugus amida sebagai muatan positif dan muatan negatif terletak pada atom O dari gugus hidroksil di posisi C7 dan atom O di posisi C6 dari gugus *vanillyl* serta gugus karbonil yang terikat pada gugus amida.

Adanya gugus hidrofobik rantai panjang dan inti yang bersifat hidrofobik akan menyebabkan terbentuknya ikatan *van der Waals* antara molekul capsaicin dengan residu asam amino pada reseptor TRPV1, yang berperan penting dalam efek

antagonisnya. Dalam hal ini pemanjangan rantai hidrofobik (non-polar) asam lemak 8-12 atom karbon akan meningkatkan aktivitas, sementara rantai hidrofobik dengan panjang lebih dari 12 atom karbon akan menurunkan aktivitas. Adapun cincin *vanillyl* (bagian kepala) dan gugus amida (bagian leher) berperan penting dalam memberikan spesifitas molekul capsaicin terhadap *vanilloid pocket* pada reseptor TRVI (Huang *et al*, 2013: 2665-2667).

Query farmakofor yang telah diperoleh tersebut kemudian digunakan sebagai *template* acuan dalam proses *virtual screening*. Adapun jarak antara masing-masing fitur farmakofor perlu dijaga sedemikian rupa pada saat desain obat baru sebab perubahan konformasi ikatan ini akan memberikan pengaruh pada aktifitas senyawa yang didesain.

C. *Virtual Screening*

Penapisan senyawa biologis terhadap milyaran senyawa masih sangat sulit, oleh karena itu, pendekatan secara virtual menjadi alternatif. Karena metode ini relatif lebih cepat bahkan mampu menangani ribuan senyawa dalam satu hari dan bergantung pada senyawa yang diuji dan kecepatan komputer.

Proses virtual skrining digunakan untuk membantu menemukan senyawa-senyawa yang kemungkinan besar berpotensi sebagai obat, dengan membutuhkan waktu yang relatif singkat. Jika target telah diketahui, algoritma *docking* dapat digunakan untuk menempatkan kandidat obat ke dalam sisi aktif dari target seperti enzim atau reseptor. Kemudian interaksi senyawa-senyawa yang telah diikatkan kemudian diurutkan berdasarkan hasil analisis secara komputasi komponen sterik dan elektrostatis. Pada penelitian ini dilakukan proses *virtual screening* terhadap

59.137 senyawa yang diunduh dari situs <http://zinc.docking.org/> dan dari situs <http://herbaldb.farmasi.ui.ac.id/>. Dari proses tersebut diperoleh delapan senyawa kimia bahan alam yang *hits* dengan fitur farmakofor ligan yang memiliki interaksi TRPV1 yaitu senyawa dengan kode ZINC02071889, ZINC08441387, ZINC12296996, ZINC08439508, ZINC084339469, ZINC08439489, ZINC08439491 dan ZINC08439458.

Kedelapan senyawa tersebut memiliki fitur farmakofor yang sesuai dengan fitur farmakofor capsaicin yaitu memiliki inti aromatik yang bersifat hidrofobik, memiliki gugus amida yang terikat pada cincin *vanillyl* dengan atom N dan karbonil serta memiliki sisi hidrofobik yang besar.

Ditinjau dari jarak antara fitur farmakofor, dari delapan senyawa *hits* yang diperoleh senyawa dengan kode ZINC02071889, ZINC08439508, ZINC08439489 dan ZINC08439491 memiliki jarak antar fitur farmakofor yang tidak berbeda signifikan dengan jarak antar fitur farmakofor molekul capsaicin sementara empat senyawa lainnya dengan kode ZINC08441387, ZINC12296996, ZINC084339469, dan ZINC08439458 memiliki perbedaan yang signifikan. Jarak masing-masing fitur farmakofor dari senyawa *hits* yang diperoleh dapat dilihat pada lampiran V.

Selanjutnya delapan senyawa *hits* tersebut kemudian di-*docking* dengan metode farmakofor, untuk melihat kesesuaian interaksi yang terjadi sesuai dengan farmakofor yang kemudian dapat dilanjutkan pada studi selanjutnya.

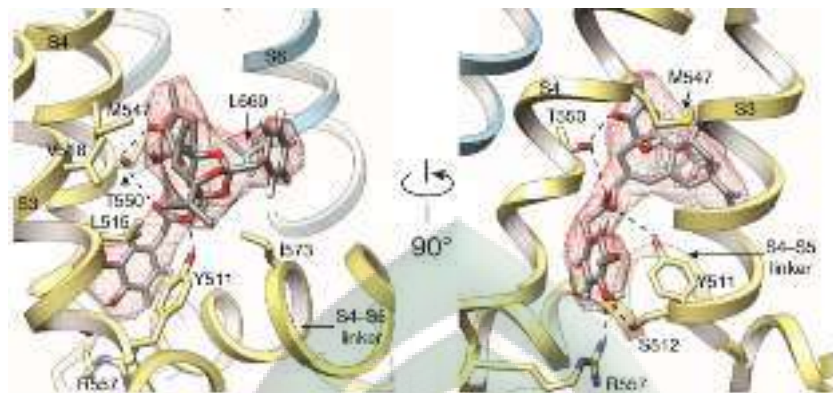
D. Docking Molekul

Protein dan senyawa uji, yang akan di-*docking* harus dipreparasi terlebih dahulu. Protein yang telah diunduh dari situs rcsb ditampilkan pada jendela MOE.

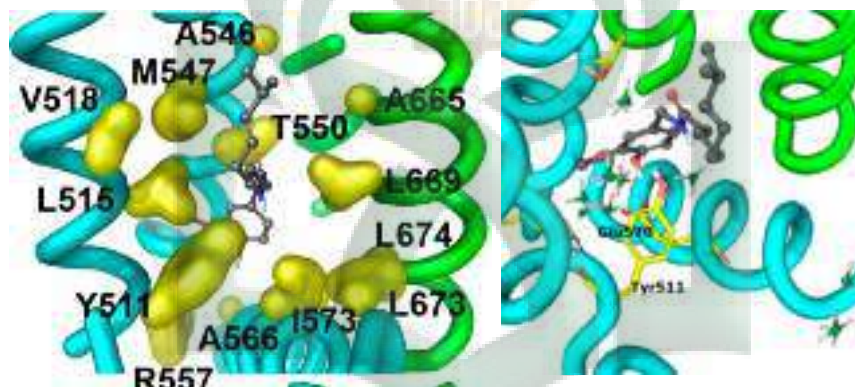
Selanjutnya dilakukan protonasi untuk menambahkan muatan atom dan hidrogen pada molekul. Struktur protein yang digunakan adalah struktur TRPV1 dengan kode protein 2n27. Tahap selanjutnya adalah tahap *docking* senyawa-senyawa uji. Pada proses *docking* senyawa uji ini digunakan perangkat lunak MOE versi 2009.

Proses simulasi *docking* senyawa-senyawa uji diawali dengan mengidentifikasi kantung atau sisi pengikatan dari enzim tersebut. Selanjutnya dengan fasilitas *simulation dock*, senyawa-senyawa uji sebagai ligan di-*docking*-kan pada reseptor, serta diarahkan pada sisi pengikatan yang sebelumnya telah diidentifikasi. Proses docking menggunakan *ligan fleksibel* dan *receptor rigid* menggunakan *metode placement* (penempatan) *Proxy triangel*, *rescoring 1 Alpha HB*, *refinement Forcefield* dan *rescoring 2 Alpha HB*. Validasi metode *docking* dilakukan dengan *redocking native ligan* pada sisi pengikatan. Dari beberapa konformasi senyawa yang diperoleh, dipilih konformasi senyawa dengan nilai rmsd (*root mean square deviation*) lebih kecil dari 2 yang berarti metode tersebut memiliki validitas yang tinggi, artinya posisi ligan *copy* mirip dengan posisi ligan asli.

Berdasarkan hasil penelitian Gao *et al* (2016) asam amino yang berperan penting dalam interaksi dengan ligan pada *query* farmakofor antagonis TRPV1 antara lain asam amino Thr550 yang akan membentuk ikatan hidrogen dengan oksigen pada gugus karbonil yang berada pada cincin *vanillyl*. Selain itu terdapat pula asam amino Ser512 dan Arg557 yang berperan pada interaksi dengan gugus hidrofobik yang terdapat pada ligan.



Gambar 34. *Docking* senyawa Antagonis TRPV1 (Gao *et al*, 2016: 3).



Gambar 35. *Docking* senyawa Antagonis TRPV1 (Elokely *et al*, 2015: 141).

Adapun penelitian dari Elokely *et al* (2015) menyimpulkan bahwa setelah dilakukan *docking* terhadap reseptor TRPV1, interaksi ligan yang terjadi yaitu ikatan hidrogen antara gugus hidroksil dan N pada gugus amida ligan dengan residu asam amino Glu570, Tyr511 dan Thr550. Sementara molekul ligan yang lainnya terlibat dalam interaksi hidrofobik dengan residu asam amino lain dalam poket, dimana interaksi hidrofobik sangat penting dalam peran efek antagonis terhadap reseptor TRPV1.

Oleh karena itu, berdasarkan hasil *docking* dan dengan melihat hasil interaksi yang didapatkan, senyawa ZINC08439508, ZINC08439489 dan ZINC02071 889 menunjukkan hasil yang diinginkan dengan adanya interaksi terhadap asam amino Glu570 dan Thr550 sesuai tabel 8 dan Gambar 34-35. Ketiga senyawa ini menunjukkan interaksi sesuai dengan farmakofor maupun literatur sehingga tiga senyawa inilah yang selanjutnya dilakukan studi bioavailabilitas, toksisitas dan farmakokinetiknya.

Berdasarkan hasil *docking* senyawa *hits* hasil *virtual screening*, ditemukan bahwa untuk senyawa dengan kode ZINC08439508 memiliki interaksi dengan asam amino GluB570 pada atom H gugus hidroksil cincin *vanillyl* persentase cincin *vanillyl* persentase 47% pada jarak pengikatan 2.47 Å yang ditunjukkan dengan adanya ikatan hidrogen. Persentase pengikatan ini lebih besar daripada persentase pengikatan capsaicin yaitu 23% yang menunjukkan afinitas terhadap reseptor yang lebih tinggi. Selain itu terdapat ikatan hidrogen antara atom O gugus hidroksil pada cincin *vanillyl* dengan ThrB550 dengan persentase ikatan 11% dan jarak 1.97 Å, seperti yang tertera pada gambar 25 dan 26.

Senyawa dengan kode ZINC08439489 menunjukkan interaksi dengan asam amino Glu B570 pada gugus karbonil dengan persentase 24% pada jarak pengikatan 2.0 Å yang ditunjukkan dengan adanya ikatan hidrogen, juga terdapat ikatan hidrogen antara atom H gugus hidroksil dengan asam amino ThrB550 yang menunjukkan pengikatan dengan jarak 4.21 Å dengan persentase 20%, lebih besar dibanding persentase pengikatan capsaicin yaitu 16% yang berarti memiliki afinitas yang lebih tinggi, seperti yang tertera pada gambar 27 dan 28.

Senyawa dengan kode ZINC02071889 menunjukkan interaksi dengan asam amino GluB570 pada atom O gugus karbonil dengan persentase 13% pada jarak pengikatan 1.44 Å yang ditunjukkan dengan adanya ikatan hidrogen, juga terdapat interaksi terhadap asam amino Thr550 dengan adanya ikatan hidrogen pada jarak pengikatan 2.25 Å dengan persentase 11%, seperti yang tertera pada gambar 29 dan 30.

Dari hasil *docking* yang diperoleh, senyawa dengan kode ZINC08439508, ZINC08439489 dan ZINC0207188 memiliki interaksi dengan asam amino yang sama dengan molekul capsaicin yaitu pada Glu570 dan Thr550 sehingga diprediksi memiliki aktivitas yang sama dengan capsaicin sebagai antagonis TRPV1.

Dengan menggunakan deskriptor HKSA yang telah diperoleh sebelumnya diperoleh nilai AM1_Eele untuk senyawa ZINC08439508 -1926832,3, senyawa ZINC0207188 -1171966,3 dan senyawa ZINC08439489 1434071,7. Nilai Kier 3 untuk senyawa ZINC08439508 11,2430, senyawa ZINC0207188 9,3135 dan senyawa ZINC08439489 8.7500. Nilai PC+ untuk senyawa ZINC08439508 9,3930, senyawa ZINC0207188 5,7650 dan senyawa ZINC08439489 6.9610. Adapun nilai vdw_vol untuk senyawa ZINC08439508 814.4683, senyawa ZINC0207188 641.9803 dan senyawa ZINC08439489 673.5062. Berdasarkan persamaan HKSA Log Aktivitas = $42,086 - 0.00002569 \text{ AM1_Eele} + 7,422 \text{ PC+} + 8,842 \text{ Kier } 3 + 0,364 \text{ vdw_vol}$, dapat diketahui bahwa dari ketiga senyawa tersebut, senyawa dengan kode ZINC08439508 memiliki aktivitas paling besar sebagai antagonis TRPV1. Hasil nilai HKSA ketiga senyawa tersebut dapat dilihat pada lampiran VII.

E. Prediksi Toksisitas, Profil Farmakokinetik, dan Kajian Metabolisme

1. Studi Bioavailabilitas

Bioavailabilitas suatu obat merupakan laju dan jumlah relatif obat yang mencapai sirkulasi umum tubuh (sistem peredaran darah) untuk mencapai target dan memberikan efek fisiologis. Bioavailabilitas dalam studi farmakokinetika erat kaitannya dengan proses absorpsi dan distribusi. Proses absorpsi obat sendiri bergantung pada beberapa faktor diantaranya adalah kelarutan dan permeabilitas membran sel.

Terdapat empat parameter yang secara global dihubungkan dengan kelarutan dan permeabilitas, yaitu berat molekul, LogP, jumlah donor ikatan H dan jumlah akseptor ikatan H. Pada USAN (*United States Adopted Name*) ditemukan bahwa jumlah N dan O pada rumus molekul lebih besar dari 10 pada 12% senyawa yang ada. Sebelas persen senyawa memiliki berat molekul lebih dari 500. *Lipinski rule of 5* menyatakan bahwa absorpsi dan permeasi yang kurang baik ketika suatu senyawa memiliki lebih dari lima donor ikatan hidrogen (ditunjukkan dengan jumlah OH dan NH), berat molekul lebih dari 500, Log P lebih dari 5 (atau MLogP lebih dari 4.15), terdapat lebih dari 10 akseptor ikatan H (ditunjukkan oleh jumlah N dan O). Kelas senyawa yang merupakan substrat untuk transporter biologis merupakan pengecualian untuk aturan tersebut.

Nilai logP berkaitan dengan lipofilitas atau hidrofobisitas yaitu kemampuan suatu senyawa kimia untuk larut dalam lemak, minyak, lipid dan pelarut non polar. Nilai log P merupakan perbandingan kelarutan senyawa dalam oktanol (lemak) dan air. Dalam konteks farmakokinetik, untuk obat yang diabsorpsi melalui oral, secara normal harus melewati *lipid bilayer* dalam *epithelium intestinal*. Agar sistem

transport efisien, obat harus cukup hidrofobik untuk menembus ke dalam lipid bilayer, tetapi tidak boleh terlalu hidrofobik karena jika obat sudah masuk ke dalam bilayer, tidak dapat menembus keluar lagi yang akan menyebabkan obat tersebut toksik karena bertahan lebih lama di dalam tubuh. Persyaratan untuk sifat lipofilisitas ini adalah nilai logP tidak lebih dari 5. Hidrofobisitas juga berperan dalam menentukan kemana obat akan didistribusikan di dalam tubuh setelah absorpsi dan seberapa cepat obat akan mengalami metabolisme dan di ekskresikan oleh tubuh (Ruswanto, 2014: 198).

Nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen juga berhubungan dengan lipofilisitas dan absorpsi. Air merupakan molekul dengan dua atom hidrogen yang bertindak sebagai donor ikatan hidrogen dan satu atom oksigen sebagai akseptor ikatan hidrogen. Molekul dengan jumlah ikatan hidrogen dengan air yang banyak akan menyebabkan kelarutannya dalam air meningkat dan membatasi absorpsinya pada membran sel. Untuk dapat melewati membran sel, jumlah molekul air yang dapat diikat oleh satu molekul obat tidak boleh lebih dari lima, oleh karena itu untuk mendapatkan absorpsi yang baik, jumlah donor ikatan hidrogen yang dipersyaratkan untuk satu molekul obat yaitu tidak lebih dari 5 (setiap molekul air memiliki 1 setiap molekul air memiliki 1 akseptor akseptor) dan jumlah akseptornya tidak lebih dari 10 (setiap molekul air memiliki 2 setiap molekul air memiliki 1 akseptor pendonor) (Davit et al, 2017: 2646).

Adapun nilai berat molekul berhubungan dengan permeabilitas membran. Permeabilitas membran merupakan kemampuan suatu membran untuk dapat meloloskan zat yang melaluinya. Proses distribusi obat terjadi dengan cara menembus membran. Senyawa dengan berat molekul >500 akan mempunyai ukuran yang besar

yang menjadi penghalang sterik dan akan sulit melintasi membran biologis (Ruswanto, 2014: 198).

Dari 3 senyawa hasil *virtual screening* yang telah hasil di-*docking* dengan metode *pharmacophore* dan telah menunjukkan interaksi yang sesuai, diperoleh dua senyawa dengan angka Lipinski yang sama dengan 0, artinya tidak ada satupun aturan Lipinski yang dilanggar. Sehingga dua senyawa tersebut diprediksikan memiliki bioavailabilitas yang baik sehingga jika dikonsumsi peroral dapat diabsorpsi dengan baik secara sistemik. Nilai Lipinski masing-masing senyawa dapat dilihat pada tabel 10.

2. Hasil Prediksi Toksisitas

Setelah memperoleh 3 senyawa hasil *virtual screening* yang telah melalui proses *docking* dengan metode *pharmacophore* dan kemudian diamati aturan Lipinski-nya, selanjutnya dilakukan prediksi toksisitas untuk ketiga senyawa tersebut menggunakan perangkat lunak Toxtree yang dapat membantu melihat tingkat toksisitas dari suatu senyawa dengan mengklasifikasikannya dalam bagian tertentu. Pada penelitian kali ini, parameter yang digunakan dari toxtree antara lain *Skin irritation/Skin corrosion*, *Cytochrome P450-mediated drug metabolism*, dan *Kroes TTC*. Dari parameter tersebut diharapkan bahwa senyawa yang diuji dapat dilihat tingkat toksisitasnya.

Berdasarkan toxtree secara umum, ketiga senyawa hits terbaik hasil *virtual screening* dapat dimetabolisme pada sitokrom P450. Senyawa ZINC02071889 dan ZINC08439508 tidak bersifat korosif pada kulit sementara senyawa ZINC08439489 tidak bersifat korosif dan tidak mengiritasi kulit.

Berdasarkan PreADMET senyawa ZINC02071889 bersifat pada tikus, sementara senyawa ZINC08439508 dan ZINC08439489 tidak bersifat karsinogenik.

Ditinjau dari LD50 pada tikus, berikut urutan LD50 3 senyawa hits terbaik hasil virtual screening dari yang tertinggi hingga yang terendah yaitu ZINC08439508, ZINC02071889, ZINC08439489. Ditinjau dari pLC50 toksisitas pada ikan dengan urutan tertinggi hingga terendah ZINC08439508, ZINC08439489, ZINC02071889. Ditinjau dari toksisitas *Tetrahymena Pyriformis* pIGC50 dari tertinggi ke terendah yaitu ZINC02071889, ZINC08439489, ZINC08439508. Nilai dari masing-masing LD50, pLC50, dan pIGC50 dapat dilihat pada tabel 10.

3. Hasil Prediksi Farmakokinetik

Berdasarkan prediksi farmakokinetik pada tabel 11, tiga senyawa hits hasil virtual screening dengan interaksi terbaik memiliki persentase penyerapan usus pada manusia berkisar antara 70-100% yang menandakan bahwa semua senyawa tersebut dapat diserap dengan baik. Sel Caco-2 merupakan turunan dari kolon adenokarsinoma manusia dan memiliki berbagai jalur transport obat melalui epitel usus. Semua senyawa memperlihatkan permeabilitas yang sedang pada sel Caco-2.

Penetrasi Blood Brain Barrier digambarkan sebagai $BB = [Brain]/[Blood]$, dimana $[Brain]$ dan $[Blood]$ merupakan kondisi keadaan tunak senyawa radiolabel pada otak dan perifer darah. Prediksi penetrasi BBB berarti memprediksi apakah senyawa dapat melewati pembatas otak-darah (sawar darah otak). Hal ini sangat penting pada lingkup farmasi karena senyawa aktif sistem saraf pusat harus dapat melewati pembatas ini sementara senyawa inaktif sistem saraf pusat tidak boleh melewatinya agar mencegah efek samping pada kerja normal sistem saraf pusat.

Senyawa ZINC08439508 dan ZINC08439489 menunjukkan absorpsi lemah/sedikit pada sistem saraf pusat sementara senyawa ZINC02071889 menunjukkan angka 0.286578 yang berarti senyawa ini memiliki absorpsi yang sedang pada sistem saraf pusat.

Umumnya, hanya obat yang tidak berikatan yang tersedia untuk difusi atau transpor melalui membran sel, dan juga untuk interaksi dengan target farmakologi. Oleh karena itu, derajat pengikatan protein plasma obat mempengaruhi tidak hanya pada aksi obat tapi juga disposisi dan efikasinya. Senyawa ZINC08439508 dan ZINC08439489 menunjukkan kemampuan berikatan dengan protein plasma yang sedang. Sedangkan senyawa ZINC02071889 menunjukkan persen pengikatan diatas 90% yang berarti bahwa senyawa tersebut terikat baik pada protein plasma. Hasil prediksi farmakokinetik masing-masing senyawa dapat dilihat pada tabel 11.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas senyawa turunan capsaicin sebagai antagonis reseptor TRPV1 menunjukkan bahwa deskriptor yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa sebagaimana ditunjukkan dengan persamaan HKSA terbaik: $\text{Log Aktivitas} = 42,086 - 0.00002569 \text{ AM1_Eele} + 7,422 \text{ PC} + 8,842 \text{ Kier 3} + 0,364 \text{ vdw_vol}$
2. Asam amino yang penting dalam interaksi reseptor dengan beberapa senyawa Antagonis reseptor TRPV1 adalah Glu570 dan Thr550. Adapun *query farmakofor* yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor yaitu memiliki cincin *vanillyl* aromatik (F12:Aro), memiliki akseptor proton atom oksigen (F1&F2:Acc), donor dan akseptor proton (F6:don&Acc), atom nitrogen (F3:Don) dan gugus hidrofobik (F4,F5,F7-F11,F13,F14:Hyd).
3. Senyawa-senyawa *natural product* hasil *virtual screening* yang berpotensi sebagai antagonis reseptor TRPV1 berdasarkan fitur farmakofor senyawa turunan capsaicin adalah ZINC08439508, ZINC08439489, ZINC02071889, ZINC08439458, ZINC08441387, ZINC12296996, ZINC08439491 dan ZINC08439469.
4. Senyawa ZINC08439508, ZINC08439489 dan ZINC02071889 merupakan ketiga senyawa yang memiliki interaksi yang baik dengan adanya interaksi dengan asam amino Glu570 dan Thr550 yang berperan dalam membentuk

spesifitas ikatan dengan vanilloid poket dan memiliki gugus hidrofobik yang berperan dalam memberikan efek antagonis.

5. Senyawa dengan kode ZINC08439508 merupakan senyawa terbaik diantara 59.137 senyawa dilihat dari sisi HKSA, kecocokan pada *query farmakofor*, *docking* dengan metode farmakofor dan interaksi terbaik, prediksi bioavailabilitas menggunakan rule of 5 Lipinski, dan prediksi ADME/T.

B. Implikasi Penelitian

1. Penelitian ini memberikan implikasi baik terhadap pihak institusi maupun pemerintah dan diharapkan penelitian ini berguna untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya sebagai upaya untuk mendapatkan senyawa-senyawa sebagai obat anti-neuropati. Hasil prediksi aktivitas melalui studi HKSA ini diharapkan berguna dalam menentukan senyawa turunan obat anti anti-neuropati yang dapat disintesis dan diuji lebih lanjut.
2. Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mendesain senyawa Antagonis TRPV1 yang baru dengan aktivitas yang lebih baik.

KEPUSTAKAAN

- Al-Qur'an Al- Karim dan Terjemahannya: Kementrian Agama RI. 2018
- Bhadoriya *et al.* *Three-Dimensional Quantitative Structure–Activity Relationship (3D-QSAR) Analysis And Molecular Docking-Based Combined In Silico Rational Approach To Design Potent and Novel TRPV1 Antagonists*. India : Medicinal Chemistry Research. 2012
- Cohen & Mao. *Neuropathic Pain: Mechanisms and Their Clinical Implications*. USA : Departments of Anesthesiology and Critical Care Medicine and Physical Medicine and Rehabilitation, Johns Hopkins School of Medicine. 2014
- Davit *et al.* *Beyonf the Rule of 5 : Lesson Learned from AbbVie's Drugs and Compound Collection*. United States : AbbVie Inc. 2017
- Elokely *et al.* *Understanding TRPV1 Activation By Ligands: Insights From The Binding Modes Of Capsaicin and Resiniferatoxin*. Philadelphia : Institute for Computational Molecular Science, Temple University. 2015
- Fan & Zheng. *Understand Spiciness: Mechanism Of TRPV1 Channel Activation By Capsaicin*. Department of Physiology and Membrane Biology, University of California : USA. 2016
- Fattori *et al.* *Capsaicin: Current Understanding of Its Mechanisms and Therapy of Pain and Other Pre-Clinical and Clinical Uses*. Brazil : Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia. 2016
- Frias & Merighi. *Capsaicin, Nociception and Pain*. Italy : Department of Veterinary Sciences, University of Turin, Largo Paolo Braccini. 2015
- Gao *et al.* *TRPV1 Structures In Nanodiscs Reveal Mechanisms Of Ligand And Lipid Action*. USA : Macmillan Publishers Limited. All rights reserved. 2016
- Ge *et al.* *Synthesis and Biological Evaluation of Nitric Oxide-releasing Derivatives of Capsaicin as Analgesia Drugs*. China : School of Pharmacy, China Pharmaceutical University. 2011
- Jara-Oseguera *et al.* *TRPV1: On The Road To Pain Relief*. USA : NIH Public Access. 2015

- Kristam *et al.* *3D-QSAR Analysis of TRPV1 inhibitors Reveals a Pharmacophore Applicable to Diverse Scaffolds and Clinical Candidates*. India : Department of Computational Chemistry. 2013
- Hansch, Corwin. *The Physicochemical Approach to Drug Design and Discovery (QSAR)*. Drug Dev. Res. 1981.
- Hanson *et al.* *Capsaicin Interaction with TRPV1 Channels in a Lipid Bilayer : Molecular Dynamic Simulation*. United Kingdom : Departement of Biochemistry University of Oxford. 2015
- Huang X-F *et al.* *Capsaicin and Its Analogues: Structure-Activity Relationship Study*. Changzhou-China : School of Pharmaceutical Engineering & Life Science, Changzhou University. 2013
- Huang *et al.* *Transient Receptor Potential (TRP) Channels in Drug Discovery: Old Concepts & New Thoughts*. USA : MDPI. 2017
- Malek *et al.* *The Importance of TRPV1-Sensitisation Factors for The Development of Neuropathic Pain*. Poland : Departement of Pain Pharmacology. 2015
- Meacham *et al.* *Neuropathic Pain: Central vs. Peripheral Mechanisms*. New York : Crossmark. 2017
- Oseguera *et al.* *TRPV1: On The Road To Pain Relief*. USA : NIH Public Access. 2008
- Nagy *et al.* *Pharmacology of the Capsaicin Receptor, Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 Ion Channel*. London-UK : Department of Surgery and Cancer, Section of Anaesthetics, Pain Medicine and Intensive Care, Imperial College, Chelsea and Westminster Hospital. 2014
- Neuropathic Pain Guideline*. GMMMG (Greater Manchester Medicines Management Group). NHS. 2014
- Nogrady, Thomas. *Kimia Medisinal Pendekatan secara Biokimia*. Penerbit ITB: Bandung. 2000
- Pranowo, Harno Dwi dan Abdul K. Rukmana H. *Pengantar Kimia Komputasi*. CV Lubuk Agung: Bandung. 2011
- Ruswanto. *Desain dan Studi Interaksi Senyawa N'-(3,5-Dinitrobenzoyl)-Isonicotinohydrazide Pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier*

Protein Reductase (Inha). Tasikmalaya : Program Studi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada.2014

Sommer & Gruccu. *Topical Treatment of Peripheral Neuropathic Pain : Applying the Evidence*. Cross Mark : Wurzburg, Germany. 2017

Szolsanyi & Sandor. *Multimeric TRPV1 Nociceptor : Target for Analgesic*. Hungary : Cell Press. 2012

Syaikh, 'Abdullah bin Muhammad. *Tafsir Ibnu Katsir jilid III*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-syafi'i. 2009.

Toth. *Neuropathic Pain : Mechanism and Management*. Alberta : University of Calgary's Family Practice. 2012

Verma, Rajeshwar P. dan Corwin Hansch. *Use of ^{13}C NMR Chemical Shift as QSAR/QSPR Descriptor*. Chem. Rev. 2011.

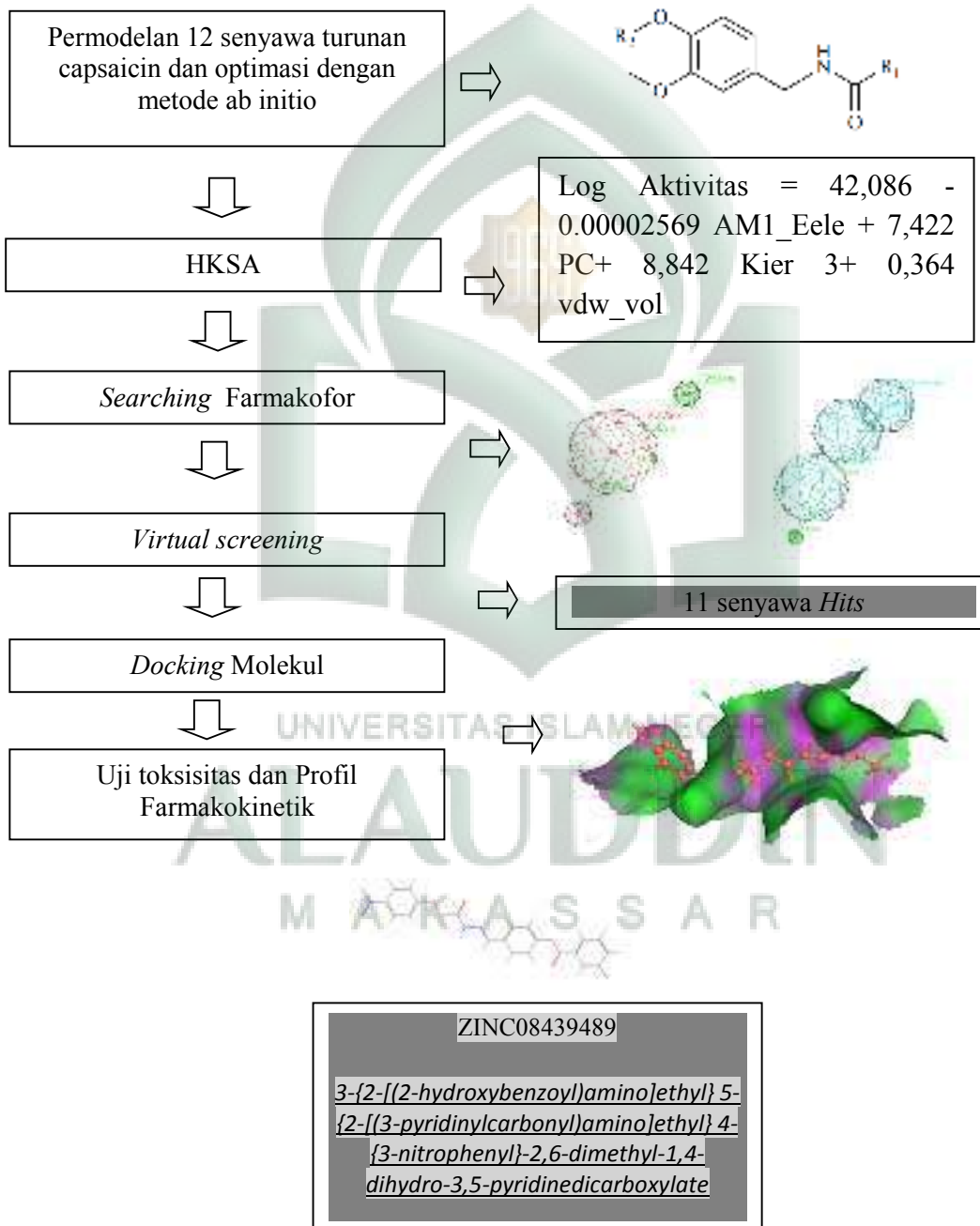
Wermuth, Camille Georges. *The Practice of Medicinal Chemistry*. Academic Press: United States. 2008.

Xuan-yi Ye *et al*. Research Article : *Identification of a Potential Target of Capsaicin by Computational Target Fishing*. China Department of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Pharmaceutical College.2015

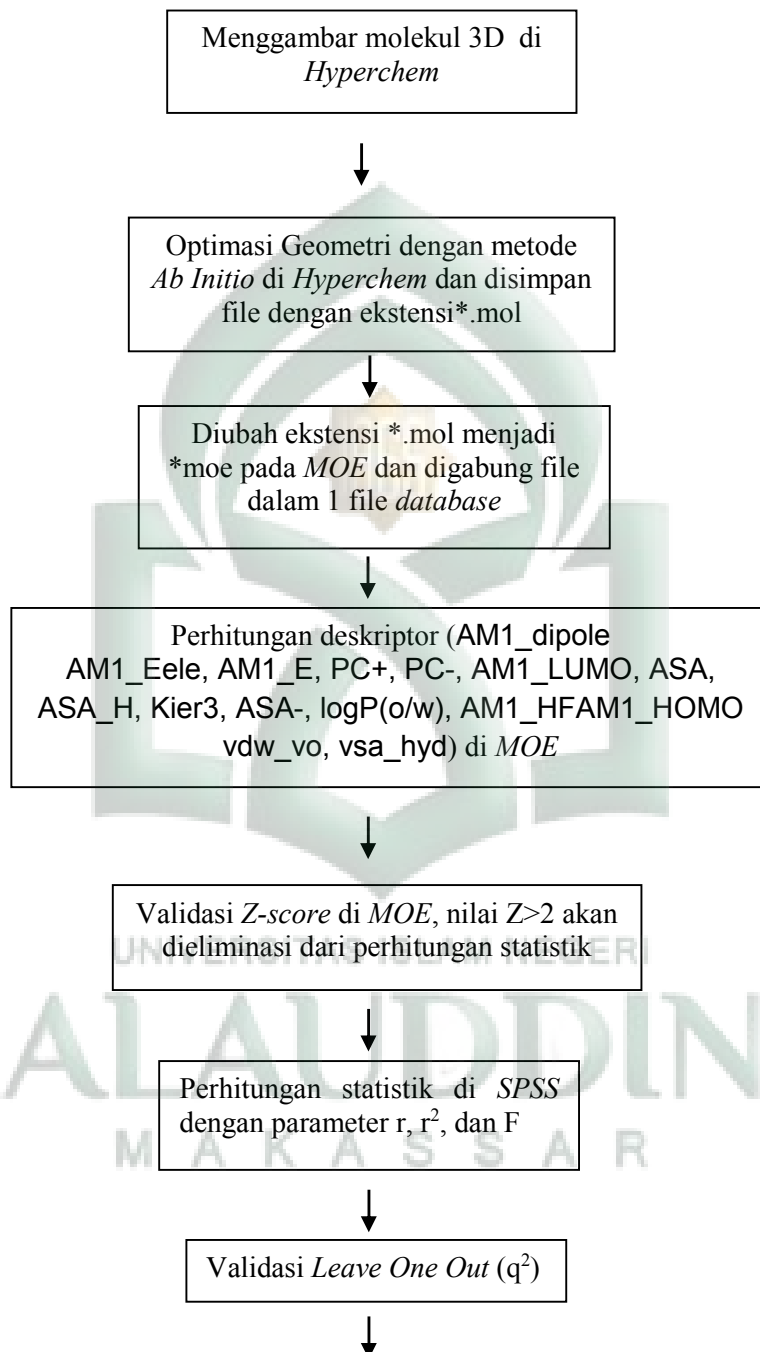
LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

a. Alur Penelitian



a. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas

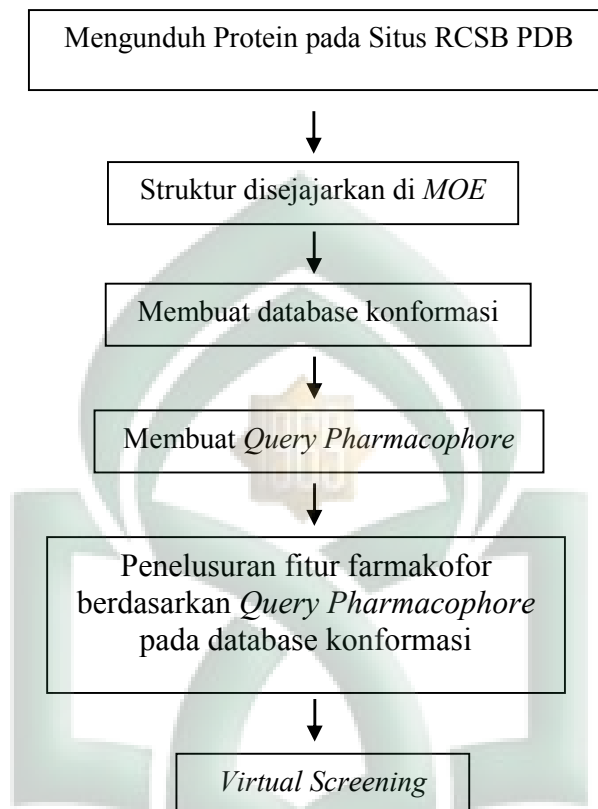


Analisis Korelasi *Pearson*

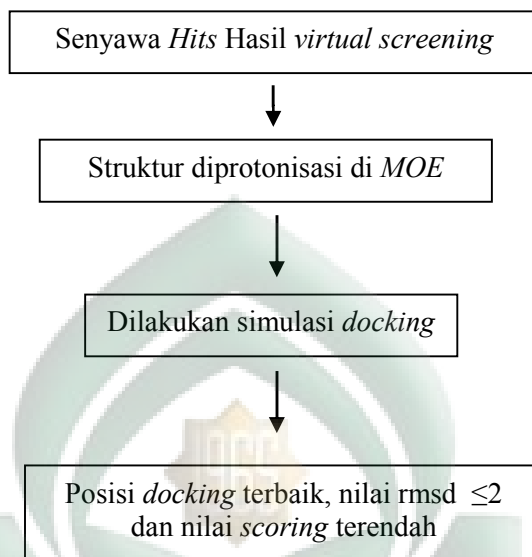


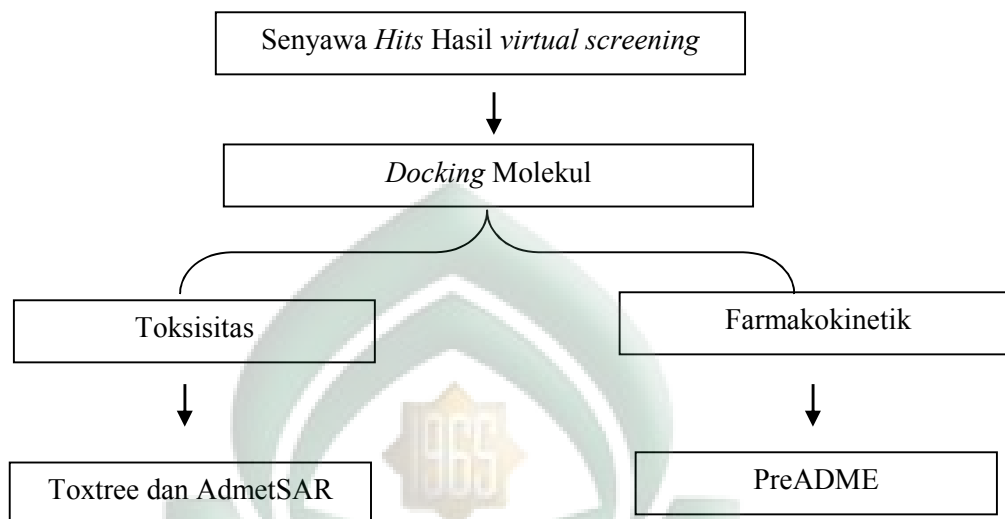
Pemilihan persamaan HKSA terbaik, $q^2 \geq 0.5$



b. Penelusuran Farmakofor

c. *Docking* Molekul



d. Prediksi toksisitas dan Farmakokinetik

Lampiran II. Nilai Deskriptor senyawa turunan capsaicin

Senyawa	AM1_dipole	AM1_Eele	AM1_E	PC+	PC-	AM1_LUMO	ASA	ASA_H	Kier3
1	9.389236	-583726.63	-133.021	-3.63761	3.19717	656.69312	109.451	533.8737	14.19687
2	9.772625	-955343.25	-157.9181	-3.50925	3.3262999	653.78302	104.8523	344.1276	9.036861
3	11.85577	-955343.25	678.8778	-15.62939	-11.66418	772.74109	70.93309	104.8864	9.553719
4	22.30978	-1447048.6	50.0524	-11.55098	-7.54354	836.77136	109.8061	634.1633	9.65928
5	13.51116	-1417243.6	615.1285	-15.80998	-11.38906	762.77405	185.462	533.1182	14.55372
6	4.698966	-1878736.3	-229.0567	-9.11302	-0.70481	1109.246	168.0352	152.0085	14.63774
7	5.451467	-1947048.6	-256.0379	-9.19502	-0.63358	1034.0029	256.889	350.484	14.63774
8	6.364335	-2020753.8	-248.3801	-9.07272	-0.6847	1223.25	140.8832	409.1201	17.13266
9	6.541821	-2047807.6	-275.7129	-9.10551	-0.68311	1224.8735	199.0722	118.2195	14.13266
10	15.8737	-949858.19	63.49911	-11.64704	-7.58147	722.20013	220.5219	572.9007	15.10803
11	15.41071	-939726.25	35.31438	-11.77345	-7.5639801	742.2959	98.84301	222.0059	9.108033
12	24.25051	-148759.31	78.30366	-11.50113	-7.5880699	816.45734	50.94498	185.91	9.65928

Senyawa	ASA-	logP(o/w)	AM1_HF	AM1_HOMO	vdw_vol	vdw_area	vsa_hyd	Aktivitas(%)	\$Z-SCORE
1	3.563	448.8836	326.625	379.3729	208.111	2.364	-3.365	258.74	1.19953
2	4.499	454.7853	329.375	383.1334	100.0733	1.788	-2.789	94.07	0.757201
3	4.53474	693.8494	498.375	542.119	180.0977	7.398	-7.401	66.05	0.986457
4	6.26874	589.008	430.625	503.5372	436.901	2.986	-5.077	307.17	1.483825
5	5.91274	699.7511	496.625	537.7513	398.532	6.462	-6.553	157.16	0.029269
6	3.86748	858.2706	624.375	718.1287	379.0758	8.727	-8.727	147.93	0.384913
7	4.80348	864.1724	625.375	721.0918	366.9012	8.151	-8.151	259.97	1.094736
8	5.88374	955.9874	692.25	794.1382	266.9808	8.727	-8.727	162.33	0.286622
9	6.81974	961.889	697.625	795.7432	318.9366	8.151	-8.151	195.9	0.164796
10	3.60948	535.4268	391.375	459.146	350.8879	4.362	-6.364	282.96	1.217711
11	4.98748	541.3284	397.375	467.5331	100.7522	3.426	-5.516	58.34	1.496748
12	4.89074	583.1063	425.75	495.3792	126.789	3.922	-5.925	74.47	1.277926

Lampiran III. Hasil nilai Kolerasi *pearson*

		Correlations				
		AM1_Eele	PC+	Kier3	vdw_vol	Aktivitas
Aktivitas	Pearson Correlation	-.311	.696*	.847**	.751**	1
	Sig. (2-tailed)	.325	.012	.001	.005	
	N	12	12	12	12	12

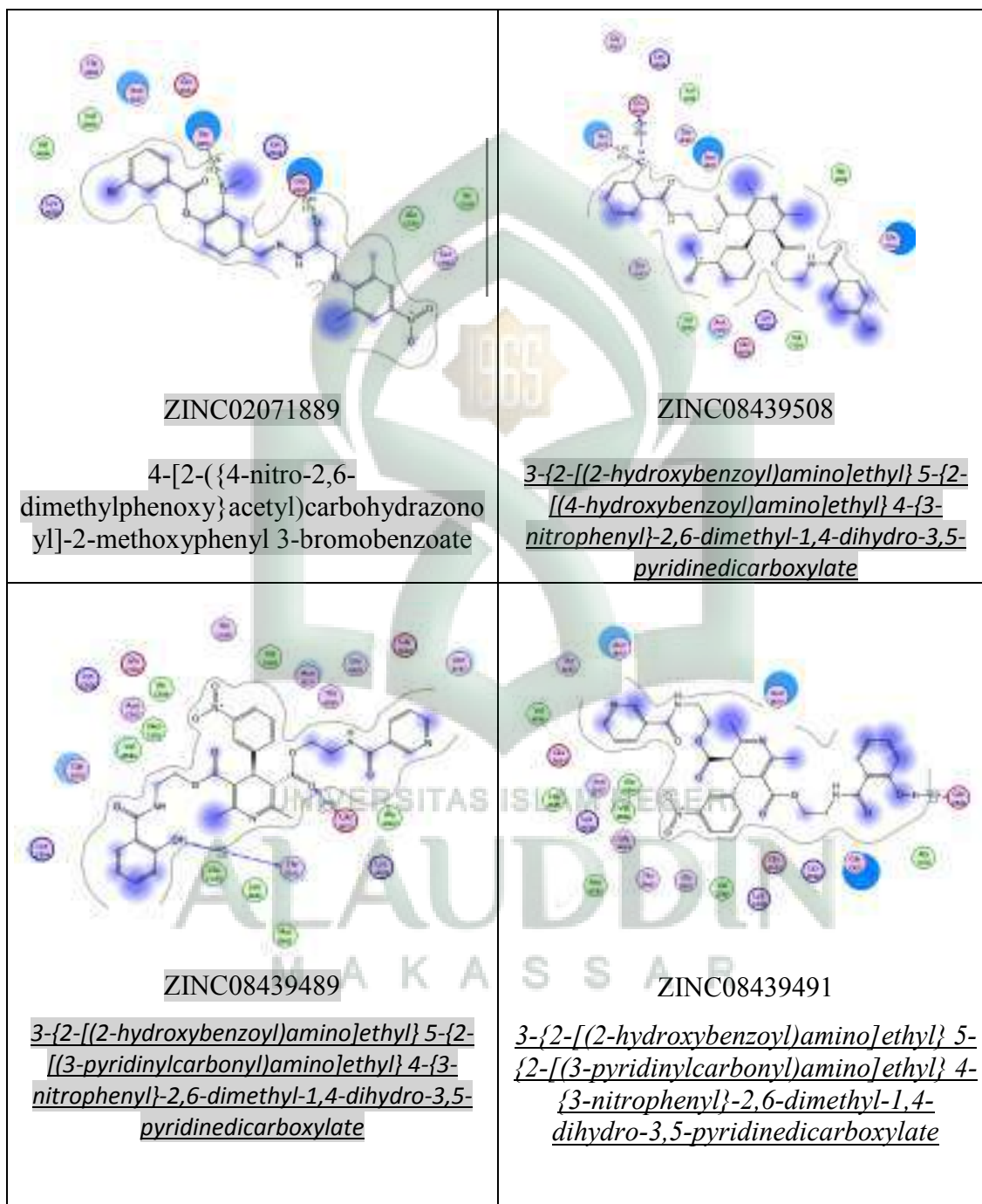
*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).




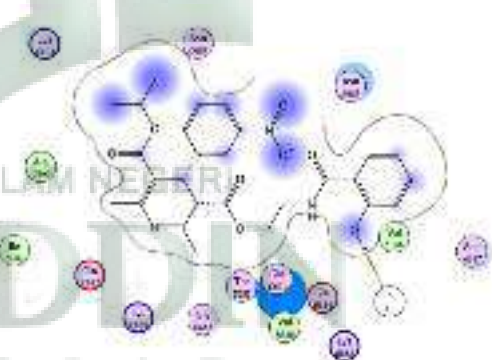
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran IV. Jarak fitur farmakofor senyawa hasil *virtual screening*

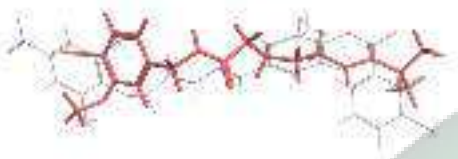


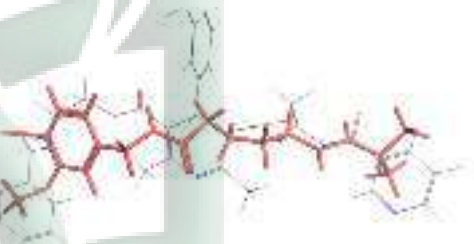


Senyawa	Jarak inti aromatik dengan gugus amida	Jarak inti aromatik dengan substituen positif	Jarak sisi hidrofobik dengan gugus amida	Panjang sisi hidrofobik
Capsaicin	3,42 Å	2,75 Å	3,59 Å	7,35 Å
ZINC02071889	3,26 Å	2,68 Å	3,45 Å	7,21 Å
ZINC08441387	2,97 Å	3,01 Å	3,25 Å	6,01 Å
ZINC12296996	3,18 Å	3,16 Å	2,42 Å	8,73 Å
ZINC08439508	3,39 Å	2,88 Å	3,27 Å	7,25 Å
ZINC084339469	1,22 Å	5,67 Å	2,43 Å	11,02 Å
ZINC08439489	3,19 Å	2,71 Å	3,19 Å	7,42 Å
ZINC08439491	3,53 Å	2,96 Å	3,05 Å	7,01 Å
ZINC08439458	3,33 Å	3,41 Å	2,55 Å	10,86 Å

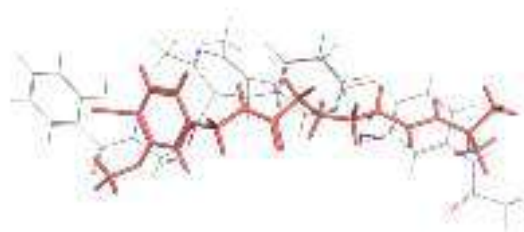
Lampiran V. Hasil *docking* interaksi senyawa *hits* hasil *virtual screening* pada protein 2n27



 <p>ZINC08439458</p> <p><u>1-(4-(2,3-Dihydroxypropoxy)-3-methoxyphenyl)-1-propanone; 3-(2-Methoxy-4-propionylphenoxy)-1,2-propanediol; 3-(4-Propionyl-2-methoxyphenoxy)-1,2-propanediol; 3-(p-Propionyl-o-methoxyphenoxy)-1,2-propanediol; 4'-(2,3-Dihydroxypropoxy)-3-methoxypropiophenon</u></p>	 <p>ZINC08441387</p> <p><u>N-{4-chloro-2-nitrophenyl}-2-[(5-ethyl-5H-[1,2,4]triazino[5,6-b]indol-3-yl)sulfanyl]acetamide</u></p>
 <p>ZINC12296996</p> <p><u>(3S)-4-[[2-[[[(8R,9R,10R,13S,14S,17S)-17-hydroxy-10,13-dimethyl-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecah</u></p>	 <p>ZINC08439469</p> <p><u>3-{2-[(2-hydroxybenzoyl)amino]ethyl} 5-isopropyl 4-{3-nitrophenyl}-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridinedicarboxylate</u></p>

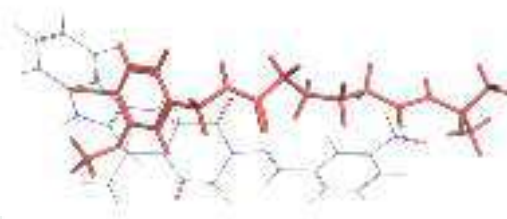
Lampiran VI. Posisi *docking* senyawa *hits* hasil *virtual screening* pada protein 2n27

 <p>ZINC02071889 4-[2-({4-nitro-2,6-dimethylphenoxy} acetyl)carbohydrazonoyl]-2-methoxyphenyl 3-bromobenzoate</p>	 <p>ZINC08439508 3-{2-[(2-hydroxybenzoyl)amino]ethyl} 5-{2-[(4-hydroxybenzoyl)amino]ethyl} 4-{3-nitrophenyl}-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridinedicarboxylate</p>
 <p>ZINC08439489 3-{2-[(2-hydroxybenzoyl)amino]ethyl} 5-{2-[(3-pyridinylcarbonyl)amino]ethyl} 4-{3-nitrophenyl}-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridinedicarboxylate</p>	 <p>ZINC08439491 3-{2-[(2-hydroxybenzoyl)amino]ethyl} 5-{2-[(3-pyridinylcarbonyl)amino]ethyl} 4-{3-nitrophenyl}-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridinedicarboxylate</p>
 <p>ZINC12296996 (3S)-4-[[2-[[[(8R,9R,10R,13S,14S,17S)-17-hydroxy-10,13-dimethyl-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecah</p>	 <p>ZINC08441387 N-{4-chloro-2-nitrophenyl}-2-[(5-ethyl-5H-[1,2,4]triazino[5,6-b]indol-3-yl)sulfanyl]acetamide</p>



ZINC08439458

1-(4-(2,3-Dihydroxypropoxy)-3-methoxyphenyl)-1-propanone; 3-(2-Methoxy-4-propionylphenoxy)-1,2-propanediol; 3-(4-Propionyl-2-methoxyphenoxy)-1,2-propanediol; 3-(p-Propionyl-o-methoxyphenoxy)-1,2-propanediol; 4'-(2,3-Dihydroxypropoxy)-3-methoxypropiophenon



ZINC08439469

3-{2-[(2-hydroxybenzoyl)amino]ethyl} 5-isopropyl 4-{3-nitrophenyl}-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridinedicarboxylate

Lampiran VI. Nilai dari parameter HKSA untuk senyawa ZINC02071889, ZINC08439508 dan ZINC08439489

Senyawa	aM1-Eele	Kier3	PC+	vdw_vol
ZINC08439508	-1926832,3	11,2430	9,3930	814,4683
ZINC02071889	-1171966,3	9,3135	5,7650	641,9803
ZINC08439489	-1434071,7	8,7500	6,9610	637,5062

